

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS



TESIS DOCTORAL

Estudio de los componentes básicos del senecio erucifolius

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

María del Carmen García Gomez

Madrid, 2015



T₁
547
GAR

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS SECCION DE QUIMICAS

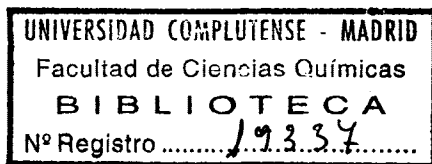
**ESTUDIO DE LOS COMPONENTES
BASICOS
DEL
SENECIO ERUCIFOLIUS**

MEMORIA

Presentada para optar al Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS

por

MARIA DEL CARMEN GARCIA GOMEZ



Madrid, Septiembre 1974

Este trabajo ha sido realizado en los Laboratorios de la Sección de Productos Naturales del Instituto de Química Orgánica General (C.S. I.C., Patronato "Juan de la Cierva") de Madrid, bajo la dirección del Investigador Dr. D. Serafín Valverde López a quien expreso mi agradecimiento.

Mi agradecimiento también a la Dirección del Centro y al Jefe de la Sección de Productos Naturales Dr. D. Fernando Martín Panizo por su amable acogida y por las facilidades que en todo momento me han concedido para el desarrollo de mi labor.

Asimismo, quiero agradecer al Dr. D. Benjamín Rodríguez (Sección de Productos Naturales, Madrid) las numerosas discusiones y el interés que ha manifestado por este trabajo.

Este trabajo está incluido dentro de un amplio programa de investigación sobre Productos Naturales, que se viene desarrollando en la Sección de Productos Naturales del Instituto de Química Orgánica General (Madrid) y para el cual se concedió una Ayuda a la Investigación por la "Fundación Juan March". A esta entidad y al Patronato "Juan de la Cierva" deseo expresar mi agradecimiento por la ayuda económica recibida.

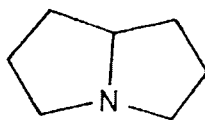
I N T R O D U C C I O N

ORIGEN HISTORICO

La familia de alcaloides conocida actualmente como "alcaloides de la pirrolizidina" ha sido denominada con anterioridad "alcaloides del Senecio" atendiendo al origen más común de este tipo de sustancias.

El origen histórico del interés por estas plantas del género Senecio está en la preocupación existente en los países ganaderos por evitar la mortalidad en sus cabañas. Hipótesis opuestas que propugnaban orígenes epidemiológicos o de envenenamiento por ingestión de plantas han sido mantenidas alternativamente para explicar estas muertes hasta que las pertinentes investigaciones veterinarias lograron establecer un nexo entre la enfermedad padecida por los animales (cirrosis del hígado) y la ingestión de plantas del género Senecio (Compuestas). Posteriormente se puso de manifiesto que efectos análogos a los observados con plantas del género Senecio se presentaba por la ingestión de plantas de varios otros géneros entre las que podemos mencionar el Crotalaria (Leguminosas), Amsinckia y Heliotropium (Boragináceas), etc.

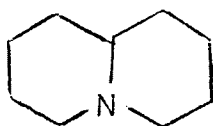
El examen químico de las especies hepatotóxicas de los géneros *Senecio*, *Heliotropium*, *Crotalaria*, etc., reveló la presencia de un grupo de alcaloides, desconocido previamente, que se caracterizaba por poseer el núcleo de la pirrolizidina (I).



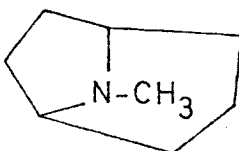
(I)

Los primeros conocimientos sobre la estructura de estos nuevos alcaloides se deben fundamentalmente a Menshikov y Adams^{1,2}.

El anillo de la pirrolizidina presenta evidentes analogías estructurales con el anillo presente en los alcaloides de la quinolizidina (II), aislados de plantas de los géneros *Lupinus* y *Cytisus* (Papilionáceas) y con el sistema de anillos del tropano (III) que se encuentra en la atropina y alcaloides análogos aislados de la familia Solanáceas.



(II)



(III)

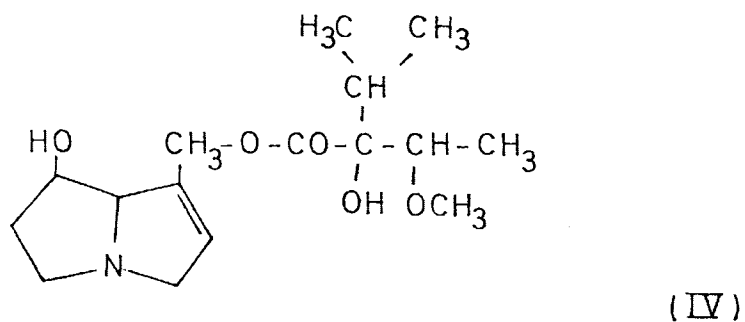
ESTRUCTURA QUIMICA DE LOS ALCALOIDES DE LA PIRROLIZIDINA

Como ya hemos indicado su característica común es poseer el anillo de la pirrolizidina (I). Este anillo lleva normalmente un sustituyente hidroximetílico y se presenta por tanto como un alcohol. Este aminoalcohol está esterificado frecuentemente lo que supone otra analogía con los alcaloides del grupo del tropano (III). La similitud estructural se ve incluso reforzada por el hecho de que los alcaloides del grupo de la pirrolizidina presentan propiedades farmacológicas análogas a las de la atropina. Los ácidos esterificantes pueden ser sencillos (acético, angélico) o típicos ácidos oxigenados y altamente ramificados

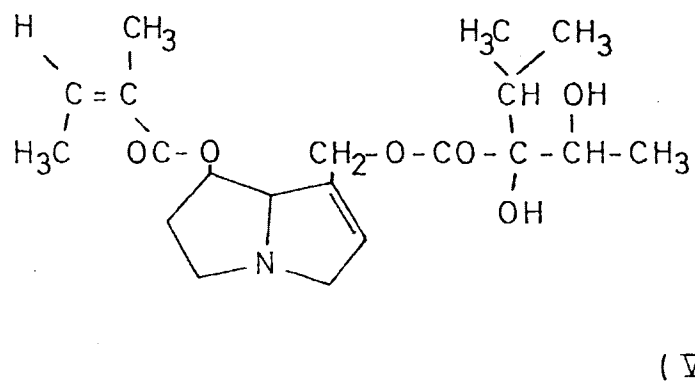
que no se han encontrado en otras fuentes animales o vegetales.

Los alcaloides de la pirrolizidina son fundamentalmente de tres tipos:

- a) Monoesteres de la necina (el aminoalcohol derivado de la pirrolizidina), tales como heliotridina (IV):

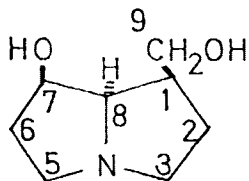


- b) Diesteres de la necina, tales como echiumina (V):



- c) Diesteres cíclicos de la necina tales como los que han sido objeto de estudio de esta tesis.

Por su parte las bases nécicas pueden poseer uno o dos sustituyentes y pueden ser saturados o poseer una insaturación. Los sustituyentes más frecuentes son hidroxili-
cos apareciendo comunmente sobre los carbonos C-7 y C-9 -
tal como en el caso de la platinecina (VI):

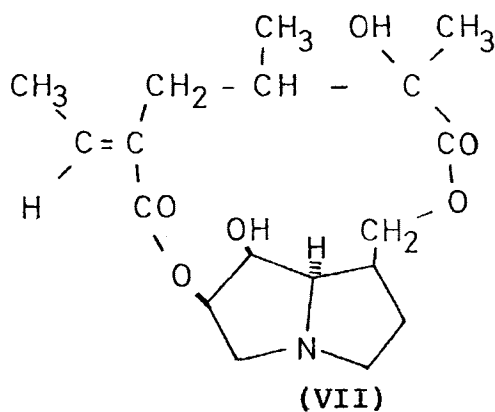


(VI)

La existencia de estos sustituyentes plantea un nuevo problema de estereoquímica al pretender asignar la estructura a cada uno de estos alcaloides. Culvenor y colaboradores ³, han identificado varios de los posibles estereoisómeros de (VI).

Como ya hemos apuntado más arriba también hay bases né-cicas que poseen una insaturación entre los carbonos C-1 y C-2 del anillo.

Con un carácter más restringido se han encontrado alcaloides en que los sustituyentes de base né-cica se encuentran sobre C-1 y C-6, tal es el caso de la madurensina (VII) ais-lado recientemente ^{4,5}, de *Crotalaria laburnifolia* y que es un diester formando un anillo de doce miembros.



Los alcaloides de los Senecios son generalmente dieste-res cíclicos de doce miembros aunque también se han encon-trado alcaloides cuyos hidroximetilos están esterificados

por un ácido de cinco carbonos y que probablemente será el precursor biogénico del ácido de diez carbonos ⁶.

Los alcaloides de las Boragináceas son mono o diesteres de ácidos monocarboxílicos. Este tipo de alcaloides se da raramente en los Senecios y aún no se ha encontrado en las Crotalarias.

Los alcaloides de Crotalaria suelen ser macrociclos de once o doce miembros, es decir diesteres de los ácidos glutárico y adípico sustituidos.

En los Senecios y Ligularia junto con este tipo de alcaloides ya descrito se han aislado N-óxidos. Se han hecho estudios en plantas para ver, las cantidades relativas de alcaloide y N-óxido, que contienen en distintas etapas de su crecimiento y se ha encontrado que los N-óxidos predominan en el período vegetativo, llegando al máximo justo antes de florecer y en el resto de los períodos es mucho menor que el contenido en alcaloides. Este hecho hace pensar que los N-óxidos forman un sistema de oxidación-reducción que probablemente tenga gran importancia en el metabolismo de la planta ^{6,7}.

HEPATOTOXICIDAD

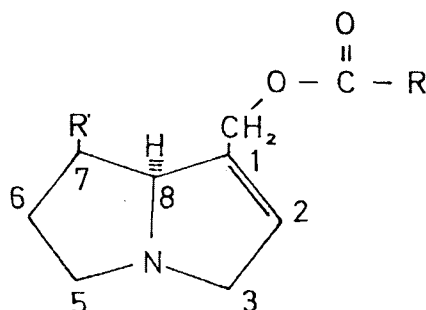
Los alcaloides de pirrolizidina producen lesiones crónicas en el hígado caracterizadas por la aparición de células del hígado ensanchadas, denominándose a ésta megalocitosis, y por una inhibición de la división de las células, lesiones crónicas en pulmón, que se denominan edemas pulmonares y lesiones en riñón.

Parece ser que estos efectos tienen relación con la estructura de estos alcaloides, pero también deben de estar relacionados con el metabolismo de éstos ya que un mismo tipo de planta produce distintas lesiones según la especie de animal que la ingiere. La respuesta de los animales a la ingestión de diferentes tipos de plantas es distinta.

Los Senecios no producen ninguna lesión en ovejas⁸, - los Heliotropium les producen leves lesiones⁹, mientras - que los crotalaria les producen lesiones crónicas en un - corto período de tiempo¹⁰.

ESTRUCTURA Y HEPATOTOXICIDAD

Si se comparan las estructuras de los alcaloides tóxicos y de aquellos que no lo son, se llega a la conclusión de que los alcaloides tóxicos son esteres derivados de --
(VIII)



(VIII)

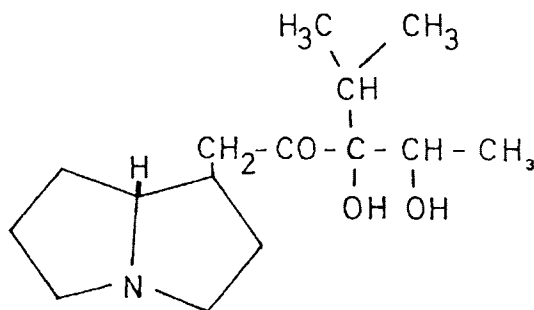
Los sustituyentes en C-7 pueden ser H, α δ β -OH y α δ β 0-acilo. Sin embargo, se han establecido tres con
diciones esenciales para la hepatotoxicidad: existencia de un doble enlace en posición C-1, C-2, en el núcleo de pirro
lizidina; existencia de un grupo alcohólico esterificado en el núcleo y que por lo menos uno de los esteres contenga ca
denas ramificadas, ya que los alcaloides en los cuales el --

ácido es lineal, no producen ninguna anormalidad en el hígado, aún después de haber sido administrados en grandes dosis ⁸ .

Puesto que en las plantas junto con los alcaloides aparecen los N-óxidos se ha investigado también la toxicidad de éstos, pudiendo decirse por el momento, que son aproximadamente -- igual de tóxicos que sus correspondientes alcaloides ¹¹ .

Existe otro hecho particularmente importante y es que genéralmente los ácidos que esterifican a los aminoalcoholes -- suelen llevar grupos -OH libres, pero existen también en la naturaleza alcaloides en los que estos grupos -OH están acetilados, pues bien, estos últimos son más hepatotóxicos que sus homólogos ^{12, 13} .

Los alcaloides hepatotóxicos, conocidos hasta ahora son esteres (-) enantiómeros de un aminoalcohol alílico de pirrolizidina. Recientemente se ha aislado el primer ester de (+)supinina, es decir, aminoalcohol derivado de 8- β pirrolizidina, denominado cynaustina (IX) (*Cinoglossum australe*). -- Este hecho ha dado lugar a que se estén estudiando la toxicidad de (+) enantiómeros de los aminoalcoholes ¹⁴ .



(IX)

PROPIEDADES ALQUILANTES DE ESTOS ALCALOIDES

Los agentes alquilantes de muy diversos tipos son nucleotóxicos y efectúan alteraciones en los ácidos nucleicos y en los enzimas, llegando a inhibir la división y mutación de las células.

La estructura de ester alílico que poseen muchos de estos alcaloides les confiere capacidad alquilante.

Parece lógico pensar que la alquilación juega un papel importante puesto que estos alcaloides operan los mismos -- cambios que los agentes alquilantes.

Una hipótesis es que la alquilación se realiza por unión a través de un enlace covalente, de un núcleo de pirrolizidina y un constituyente celular que tenga una misión importante en la división de las células.

No todos los compuestos que cumplen las condiciones antes expuestas para la toxicidad pueden efectuar alquilación "in vivo", ya que por ejemplo los compuestos que se hidrolizan fácilmente serán descompuestos aún después de estar unidos al receptor. Esto explicaría la no toxicidad de los alcaloides cuyo ester es lineal ya que estos son fácilmente hidrolizables.

Los alcaloides esteres alifáticos son muy poco reactivos, por lo que se supone que la alquilación se efectuará una vez que estén unidos al constituyente celular por fuerzas de adsorción.

En primer lugar los alcaloides se adsorben reversiblemente al receptor, esta unión podría ser suficiente para producir efectos tóxicos. Sin embargo, puesto que este efecto es permanente y progresivo es más lógico pensar que los alcaloides quedan unidos al receptor irreversiblemente por alquilación ⁸.

Los agentes alquilantes se clasifican en dos tipos:

Endo: el grupo implicado en la adsorción efectúa también la alquilación.

Exo : el grupo alquilante está fuera del receptor.

Más tarde se pensó que el agente alquilante podría ser un metabolito de los alcaloides. Esta segunda hipótesis -- viene apoyada en que se han encontrado metabolitos, después de haber administrado alcaloides de pirrolizidina, en el -- hígado y en otros tejidos, identificados como derivados pirrólicos ¹⁵ .

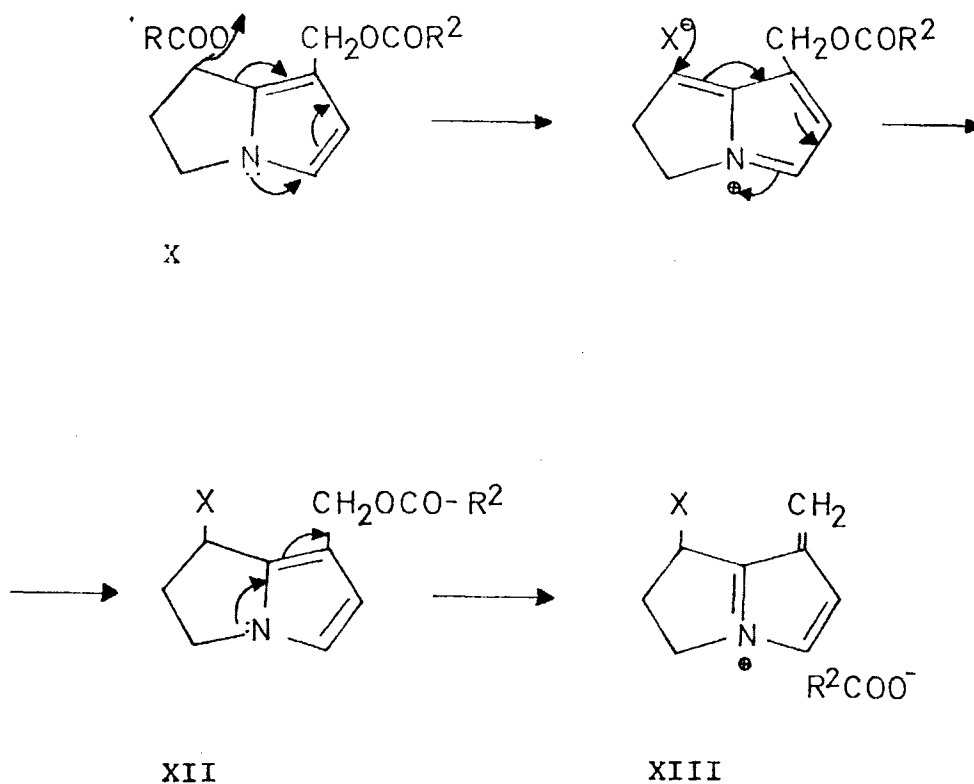
Una parte del alcaloide, dependiendo de su estructura, se metaboliza en el hígado, por un proceso de deshidrogenación a un derivado pirrólico; el cual posee uno o más centros -- muy reactivos (electrófilos) y todas las demás propiedades -- del pirrol. Este metabolito es el que reacciona rápidamente con ciertos constituyentes nucleófilos del tejido, formando los "enlace pirrol", donde ya se ha perdido la gran reactividad.

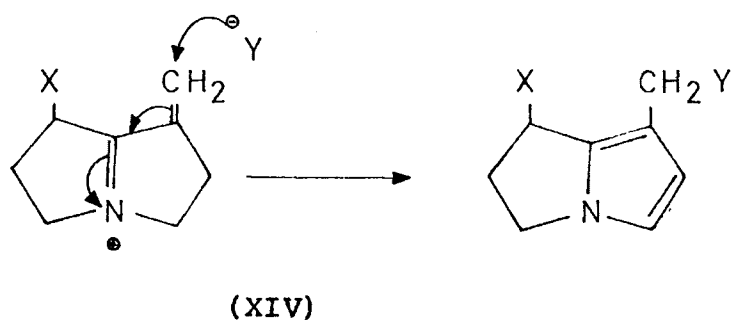
Parte de estos compuestos formados, aquéllos que son solubles, se eliminan en la orina donde se detectan o son ab-

sorbidos por otras macromoléculas.

Otra parte del metabolito, la lleva la corriente sanguínea a los distintos órganos, formándose allí los compuestos con "enlace pirrol" ¹¹.

El mecanismo de alquilación de estos metabolitos puede ser:

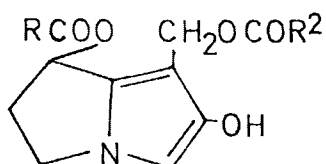




En este mecanismo observamos que X e Y, dos centros nucleófilos, han sido alquilados por el mismo metabolito, por tanto este compuesto es un agente alquilante bidentado.

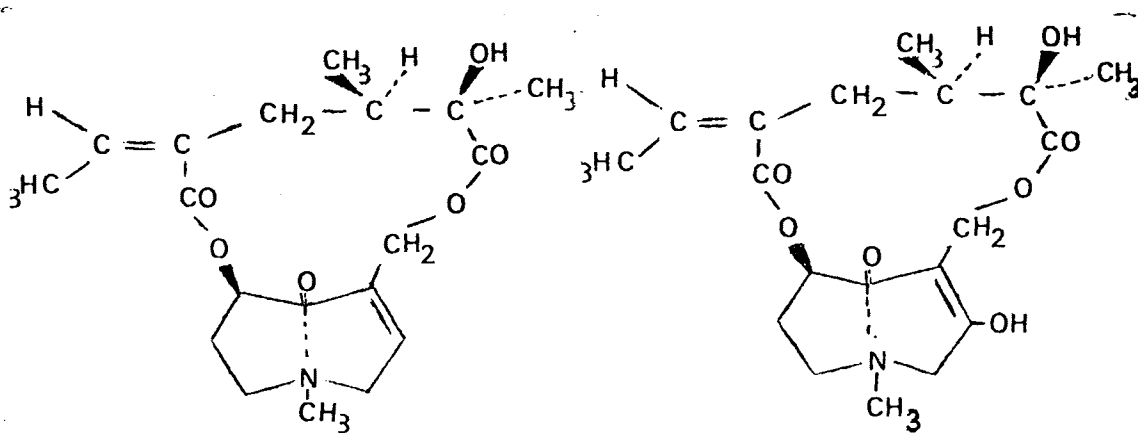
La capacidad alquilante del alcaloide (X) depende de la facilidad con que se puedan transferir los electrones del -nitrógeno ya que en realidad son los que inician este mecanismo.

Es muy probable que los enzimas hidroxilantes de los micro^somas introduzcan un grupo -OH en la posición C-2 del núcleo de pirrolizidina, el cual ayudaría a la transferencia necesaria de electrones ¹⁶. Es decir, el metabolito alquilante, en algunos casos al menos, será seguramente (XV) :



(XV)

Esta hipótesis, en la cual el agente alquilante es un metabolito pirrólico derivado de los alcaloides, se puso en duda puesto que no se veía la posibilidad de que los alcaloides de otonecina pudiesen formar estos metabolitos. - Entonces surge una nueva hipótesis en la cual se supone -- que la hepatotóxicidad de los alcaloides senkirkina (XVI) e hidroxisenkirkina (XVII), cuya base es la otonecina, era debida a los metabolitos 1-2 epóxidos ¹⁷.

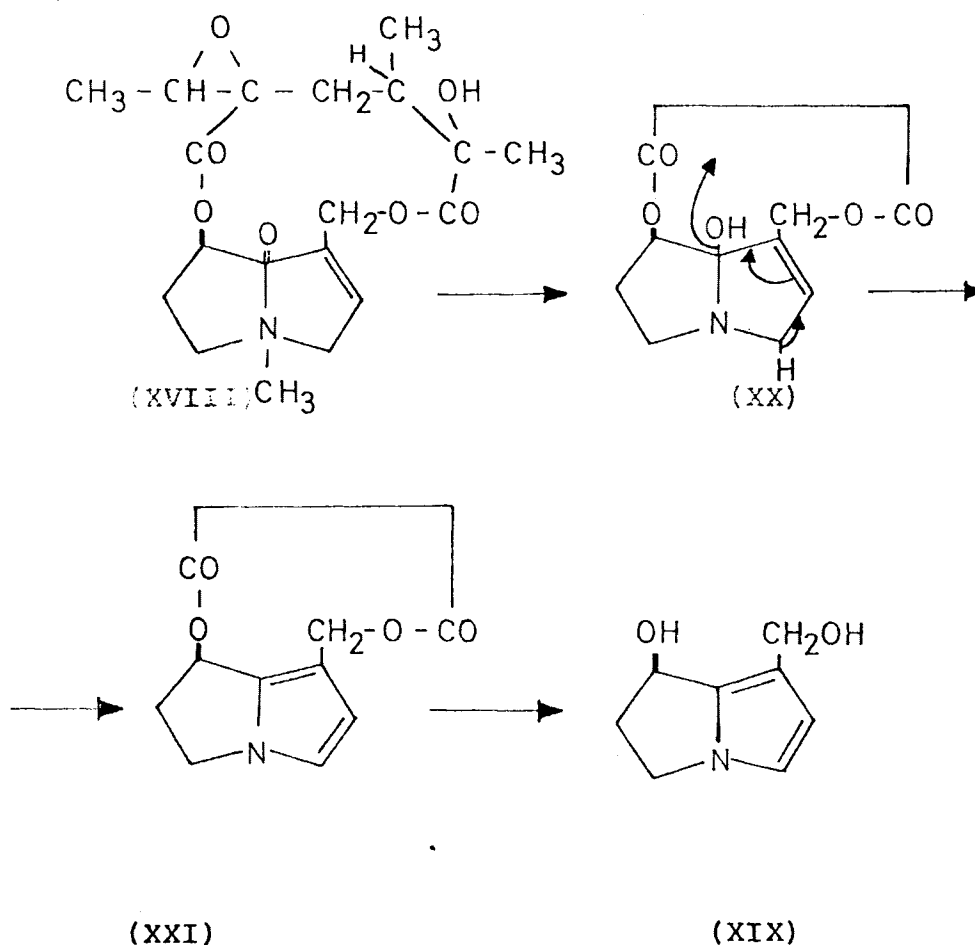


(XVI)

(XVII)

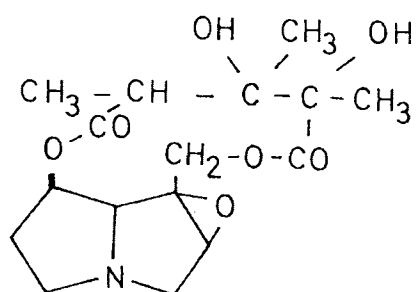
Sin embargo, se ha demostrado que la otosenina (XVIII) y otros esteres de otonecina que son hepatotóxicos son capaces de formar metabolitos pirrólicos del mismo tipo que los otros alcaloides. Se ha puesto de manifiesto al incubar otosenina en microsomas del hígado obteniéndose un derivado pirrólico idéntico a dehidroretronecina (XIX).

El esquema de la formación de estos metabolitos los podríamos representar por:



El primer paso para la obtención del metabolito pirr \acute{o} lico es una N-desmetilación, posteriormente existe una deshidratación y ya tenemos un compuesto pirr \acute{o} lico. El mecanismo posterior para la obtención del compuesto (XIX) (enanti \acute{o} mero de heliotridina 7 α -OH), es probablemente igual que para los otros alcaloides ¹⁸.

No se deshecha aún la posibilidad de que los derivados 1-2 ep \acute{o} xidos de los alcaloides fuesen los intermediarios t \acute{o} xicos. Sin embargo, se quiere confirmar y para ello se preparan los 1 α -2 α y los 1 β -2 β ep \acute{o} xidos de monocrotalina (estereois \acute{o} mero de (XXII)).

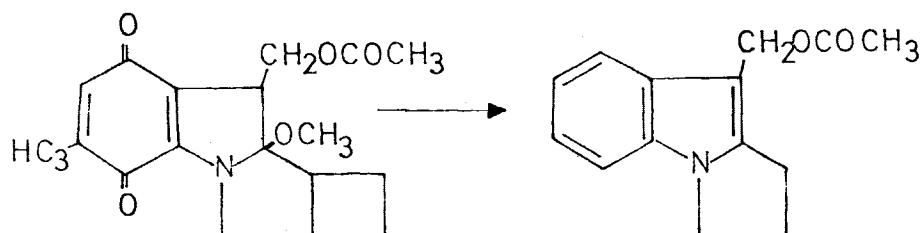


(XXII)

Ninguno de estos ep \acute{o} xidos producían lesiones en el hígado al administrárselos a ratas de dos semanas.

Estos hechos nos indican que los metabolitos pirrólicos son los que pueden iniciar la megalocitosis parenquimal ¹⁸.

Los esteres de dehidropirrolizidina son muy reactivos y tienen cierta semejanza con un metabolito del antibiótico mitomicin (XXIII).



(XXIII)

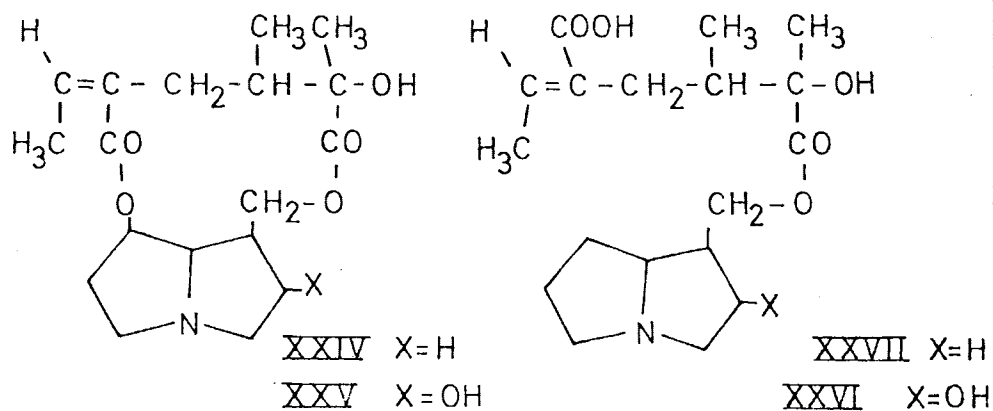
Este metabolito tiene propiedades alquilantes y facilita que se establezcan enlaces entre las dos espirales del DNA.

Es muy probable que ocurra exactamente lo mismo, con -- los metabolitos de los alcaloides de pirrolizidina impidiendo así la división y mutación de las células ¹⁹.

La confirmación de que el agente tóxico o alquilante es el metabolito pirrólico se obtiene al encontrar el metabolito de los alcaloides no hepatotóxicos.

Estos alcaloides como platifilina (XXIV) y rosmarinina (XXV), son metabolizados también a derivados pirrólicos - pero a su vez, son distintos de los correspondientes a los alcaloides tóxicos.

El metabolito (XXVI) se obtuvo incubando rosmarinina - con una preparación de microsomas comprobándose que era -- idéntico al encontrado en el hígado de una rata después de haberle sido administrado este mismo alcaloide.



El metabolito (XXVI) no es agente alquilante ya que no tiene las propiedades características de un grupo pirrol - que lleve un grupo -OH o un grupo ester conjugado con el nitrógeno pirrólico ²⁰.

Los derivados pirrólicos de los alcaloides tóxicos tienen el grupo ester conjugado con el N pirrólico y pueden reaccionar rápidamente con grupos nucleófilos.

Por tanto para que un alcaloide de pirrolizidina sea citotóxico debe satisfacer dos requisitos:

- 1°. el alcaloide debe ser metabolizado en los animales a un derivado pirrólico sin pérdida de sus grupos ester.
- 2°. el metabolito resultante debe poseer una estructura que le confiera capacidad alquilante.

El tipo de efectos tóxicos producidos dependen de la reactividad y del número de centros alquilantes del metabolito.

HEPATOTOXICIDAD RELACIONADA CON LA SOLUBILIDAD Y BASICIDAD

Se ha querido relacionar la hepatotoxicidad con otras propiedades de la molécula como son la solubilidad en agua y la basicidad.

En sentido general se puede decir que los alcaloides más tóxicos son los diésteres de baja solubilidad y poco básicos, mientras que los menos tóxicos son los de gran solubilidad y muy básicos.

Solubilidad y basicidad influyen en la partición del alcaloide en el sistema agua-lípido, es decir que la hepatotoxicidad está directamente relacionada con el coeficiente de reparto, que es una medida de la facilidad que tienen las sustancias para atravesar la membrana celular.

Se han calculado algunos de los coeficientes de partición y decrecen con la hepatotoxicidad, pero llegan a valores muy bajos y parece ser que en estos casos la hepatotoxicidad debe estar influenciada por otros factores.

Los hidroxilos en el núcleo de pirrolizidina aumentan -

la solubilidad en agua tendiendo a aumentar la toxicidad - pero disminuyen la basicidad por lo que a su vez tienden a disminuir la toxicidad. Los grupos hidroxilos en los esterres aumentan la solubilidad sin afectar la basicidad.

Algunos alcaloides de este tipo son muy poco tóxicos y probablemente es debido a su gran solubilidad en agua que impide que se distribuyan en la fase lipídica ⁸.

PROPIEDADES QUIMICAS DE LOS ALCALOIDES DE PIRROLIZIDINA

Estos alcaloides son muy estables. Las reacciones principales de ellos son: la hidrólisis, la N-oxidación y la hidrogenolisis ²¹.

La hidrólisis les separa en sus dos componentes aminoalcohol y ácido. Si se realiza con álcalis, puede ocurrir un cambio en la configuración geométrica del doble enlace.

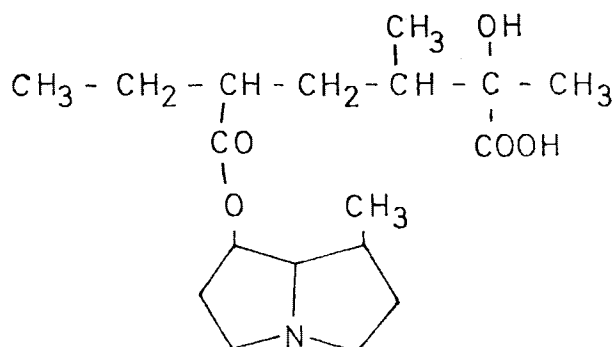
Otra reacción interesante es la interconversión entre - las bases terciarias y sus N-óxidos. Se han ensayado proce-

dimientos de reducci3n para convertir los N-3xidos, aislados de distintas plantas, en sus correspondientes aminos. Uno de ellos consiste en tratarlos con polvo de zinc y 3cidos, extray3ndose posteriormente los alcaloides.

La reacci3n inversa, es decir, conversi3n de la amina - en su correspondiente N-3xido, es muy frecuente, ya que se obtiene 3ste al tratar el alcaloide con cualquier oxidante, a3n con aquellos que son muy suaves.

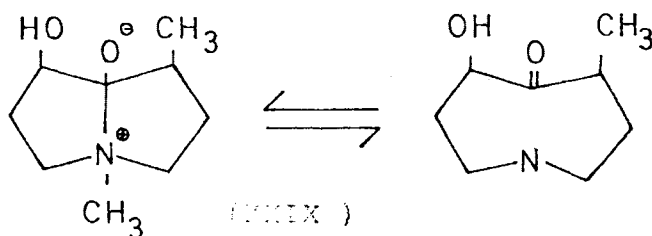
La hidrogenolisis de estos alcaloides nos informa de - como est3n esterificados los grupos hidroxilos.

Un ejemplo lo tenemos en Senecionina que al intentar hidrogenarla sufre hidrogenolisis obteni3ndose (XXVIII).

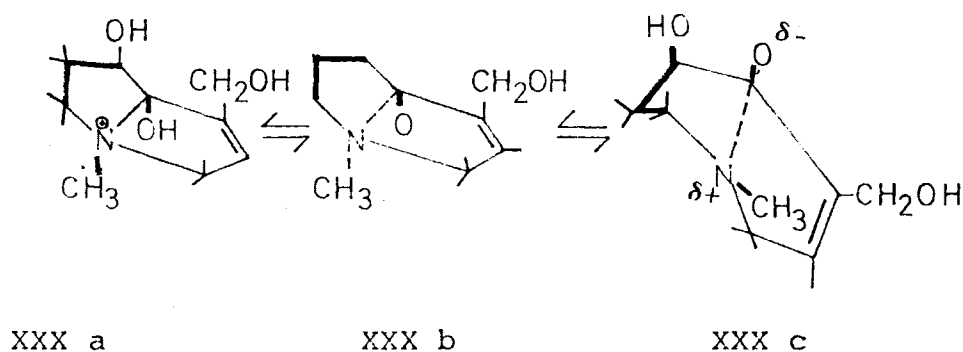


En primer lugar ocurre una fisión por el ester alílico, seguido por una esterificación intramolecular entre el -OH en α al grupo carbonilo y el ester de C-7 formándose el ciclo de lactona del ácido monocrotálico ²¹.

En los esteres de otonecina, como Otosenina, parece que tiene lugar una reacción transanular entre el grupo carbonilo y el nitrógeno terciario. Se ha realizado la hidrogenólisis de Otosenina seguida de la hidrólisis, con el fin de comprobar la hipótesis anterior. Se obtuvo un producto muy estable (XXIX) que posee la configuración en C-7 inalterada ²².



Se presente un problema estereoquímico en los esteres de otonecina, ya que debido a la reacción transanular entre los agrupamientos C=O y nitrógeno terciario podemos - escribir tres cationes resonantes:



En el catión (XXXa) de otonecina encontramos tres centros asimétricos c-7, c-8 y N cuaternario, cuyas configuraciones están fijadas. En la base libre (XXXb), puesto que no existe unión c-8-N podría ocurrir inversión de configuración y que la unión de los ciclos resulte cis como en - (XXXc).

En los alcaloides con esteres macrocíclicos que tienen un nuevo carbono asimétrico, se podrían esperar mezclas de alcaloides, por la inversión de la unión de los ciclos.

La inversión probablemente ocurriría en el aislamiento ya que en la naturaleza se da siempre la forma más estable²³.

Ultimamente, las reacciones llevadas a cabo con estas sustancias son con el fin de obtener los metabolitos responsables de los efectos tóxicos. Por tanto, las reacciones en las que se trabaja es en la obtención de derivados pirr^olicos y en 1-2 epóxidos.

Se han encontrado distintos métodos para la oxidación de los alcaloides de pirrolizidina a 1-2 dehidropirrolizidina, manteniendo intacto el agrupamiento ester, ya que esto es condición indispensable para la toxicidad. Se obtienen estas sustancias fácilmente, pero se utilizan reactivos distintos según se trate del alcaloide o del N-óxido.

Si se parte del alcaloide se utiliza como oxidante el MnO_4K en acetona y si se parte del N-óxido el reactivo utilizado es anhídrido acético²⁴.

Se ha intentado la obtención de 1-2 epóxidos derivados de estos alcaloides. El doble enlace 1-2 no sufre epoxidación con perácidos normales, pero se epoxida en presencia

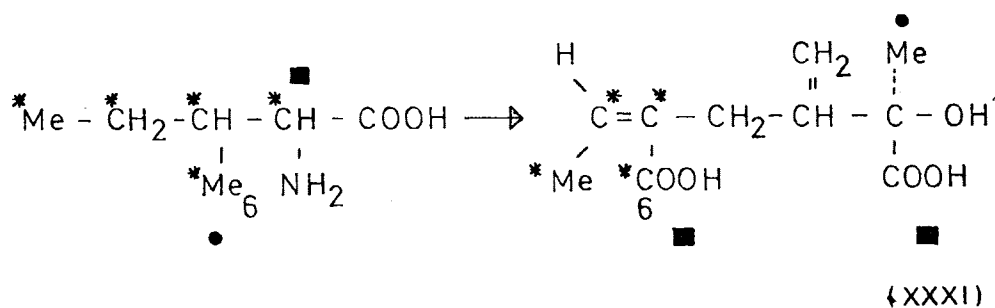
de ácido trifluorperacético en exceso de anhídrido trifluoracético y cloroformo. Se obtiene en este tipo de reacciones preferentemente el α -epóxido aunque se aísla también una pequeña cantidad del β -epóxido²⁵.

Sin embargo los β -epóxidos son químicamente más reactivos en el sentido alquilante que sus correspondientes α -epóxidos.

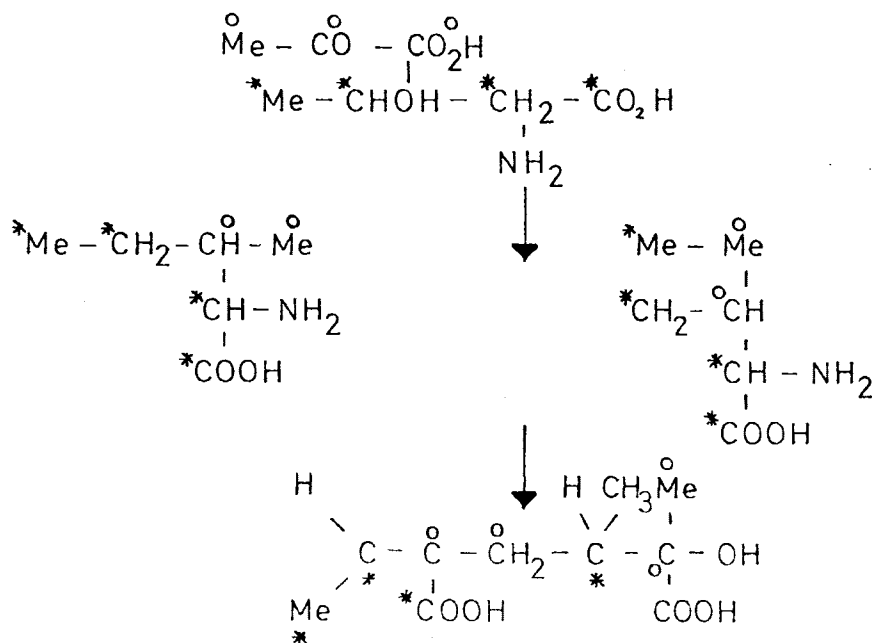
BIOSINTESIS DE LOS ACIDOS NECICOS

En los alcaloides aislados de Senecios los ácidos que esterifican a la base néica suelen ser de 10C. El ácido senecifílico y el ácido senecico que forman parte de los alcaloides Senecifilina y Senecionina respectivamente pueden considerarse como derivados de isopreno. Se ha ensayado la biosíntesis con acetato y mevalonato, pero ha fracasado, demostrando así que estos ácidos no se biosintetizan por la misma vía de los terpenos²⁶.

La L-isoleucina (XXXI), está implicada en la biosíntesis del ácido senecifílico. En primer lugar se descarboxila y se deshidrogena, posteriormente se oxida la cadena para dar el carboxilo C-6²⁷.



El ácido senécico se biosintetiza a partir de treonina y el ácido pirúvico según el siguiente esquema²⁸:



ACTIVIDAD ANTITUMORAL

Por poseer estos alcaloides actividad antimitótica se está investigando a estas sustancias como posibles agentes antitumorales.

Se ha ensayado la acción de distintos tipos de alcaloides de pirrolizidina contra seis clases de tumores. Se llega a la conclusión de que los únicos alcaloides que poseen acción antitumoral son aquellos que tienen capacidad alquilante.

Estos alcaloides producen un fuerte efecto antimitótico sobre el parenquima de las células del hígado, pero no producen el mismo efecto sobre otras células, parece lógico -- pensar entonces que esta acción se debe a algún metabolito del alcaloide producido en el hígado.

Es probable que la hepatotoxicidad y la acción antitumoral se deba al mismo agrupamiento funcional. De hecho algunos miembros de la serie de las dehidropirrolizidinas tienen propiedades antitumorales²⁴.

Toda la investigación que se realiza ahora, en este - sentido va encaminada a encontrar derivados en estos alcaloides en los que existiesen la actividad antitumoral, pero no produjesen el resto de los efectos tóxicos causados por ellos.

P A R T E T E O R I C A

Como ya hemos puesto de manifiesto anteriormente, los alcaloides del Senecio o de la pirrolizidina, presentan un doble interés químico y farmacológico. En el curso de este trabajo hemos estudiado una especie autóctona de plantas, *Senecio erucifolius*, cuyo notable contenido de alcaloides pirrolizidínicos hemos elucidado. El establecimiento de las estructuras de estos alcaloides, así como el estudio de su reaccionabilidad química, buscando nuevos y específicos métodos que faciliten la correlación de sustancias afines, fueron los objetivos propuestos, y que describimos a continuación.

Dada la complejidad de la mezcla de alcaloides que se aislaron según se describe en la Parte Experimental, se procedió, en un principio, a fraccionar la mezcla total de alcaloides en dos grupos principales que denominamos "Componentes básicos menos polares" y "Componentes básicos mas polares" del *S. erucifolius*.

P A R T E I

COMPONENTES BASICOS MENOS POLARES DEL S. ERUCIFOLIUS

El extracto crudo de alcaloides se analizó por cromatografía en capa fina (c.c.f.) sobre sílice observándose aparentemente una única mancha. Sin embargo, la cromatografía del mismo crudo sobre alúmina y cloroformo como eluyente, - permite apreciar dos manchas alcaloídicas. En consecuencia, se intentó separar los componentes del crudo mediante cromatografía en columna de alúmina desactivada al grado III. La marcha de la separación, en esta columna se controló - mediante c.c.f. sobre alúmina y eluyendo con cloroformo.

De acuerdo con los resultados de este control analítico se reunieron las fracciones F-5 a F-8, que daban mancha única y cuyo residuo, obtenido por evaporación del disolvente, cristalizaba espontáneamente al enfriarse.

En las fracciones F-9 a F-26, agrupadas bajo la denominación ETA-II, se aprecian dos manchas de alcaloides y están

constituídas por un residuo aceitoso bastante coloreado,

Por último la fracción F-27 a F-32, que denominamos - ETA-III, daban una única mancha de alcaloides aunque el aspecto del residuo era aceitoso y coloreado indicando claramente que el producto estaba contaminado con otras sustancias.

Estas observaciones nos indujeron a repurificar las -- sustancias denominadas ETA-II y ETA-III sometiéndolas a un tratamiento que permitiera eliminar posibles contaminantes neutros. Con este fin, se extrajeron de nuevo con ácido -- tartárico, repitiendo así el proceso de purificación química que describimos en la Parte Experimental. Los residuos así tratados son los que denominamos definitivamente ETA-II y ETA-III.

Por su parte las fracciones F-5 a F-8, una vez agrupadas constituyen los "componentes menos polares del S. erucifolius".

No obstante el hecho de que este residuo cristalizaba espontáneamente, pronto se tuvieron indicios de que el pro--

ducto estaba constituido por más de un componente. Al comprobar su pureza mediante c.c.f. en gel de sílice eluyendo con cloroformo:metanol 5% aparecieron varias manchas (su número exacto no es fácil de determinar).

Intentamos pues resolver esta mezcla en una columna de gel de sílice, aunque el resultado de la cromatografía en capa fina ya auguraba que la separación no sería fácil.

Por elución con cloroformo:metanol 5% (v/v) se obtuvo, tras evaporación de las fracciones F-12 a F-17, un sólido blanco cristalino que daba mancha única, tanto en la c.c.f. sobre gel de sílice, como sobre alúmina. De esta sustancia se obtuvieron 7,147 gramos de producto cristalizado a partir de 48 gramos de crudo de alcaloides. Denominamos esta sustancia SIG y procedimos a su caracterización e identificación subsiguiente.

SIG cristaliza de acetona y el producto cristalino funde en un intervalo relativamente amplio de 196-202°C. Tampoco presentaban un punto de fusión nítido algunos de los derivados de esta sustancia. Así, por ejemplo, el picrato

preparado conforme describimos en la Parte Experimental, fué cristalizado de etanol, fundiendo a 201 - 203°C. Más amplio es el intervalo a que funde el metaiodato de SIG, pues parte de los cristales funden a 180 - 185°C, mientras que el resto no termina de fundir hasta los 225°C.

Este último dato terminó por confirmarnos en nuestras sospechas, de que la sustancia denominada SIG no era un producto puro, a pesar de su conducta cromatográfica y de que tanto ella como sus derivados, eran productos cristalinos.

Ya que los métodos cromatográficos de absorción se habían revelado incapaces de resolver la presunta mezcla de sustancias existentes en SIG, recurrimos a la cromatografía de reparto.

Con la finalidad de obtener alguna información previa analizamos la sustancia SIG sobre papel Wathman ,núm. 1, - eluyendo ¹, con butanol-ac. acético al 5%. De este modo, podemos apreciar tres manchas , aunque dos de ellas aparecen --

bastante solapadas, ya que sus R_F son respectivamente 0,56; 0,53 y 0,42.

Con el fin de eludir las dificultades experimentales - que presenta la preparación de columnas de celulosa, decidimos ensayar la separación de los tres componentes detectados utilizando una columna de Celita. Las separaciones - sobre celita son análogas a las obtenidas con celulosa y - sin embargo la técnica experimental es más rápida y asequible.

Utilizamos pues una columna de Celita 545, eluyendo sucesivamente con Cl_4C , $Cl_4C-CHCl_3$ (3:1, v/v), $Cl_4C:CHCl_3$ (1:1, v/v) y $CHCl_3$. La composición de cada una de las fracciones obtenidas se determinó por cromatografía sobre papel Wathman n° 1, eluyendo con butanol acético al 5%.

De este modo fué posible aislar claramente el componente de R_F 0,42 al que denominamos E-3A. Sin embargo, la cromatografía sobre papel no permitía una identificación inequívoca de las fracciones que contenían el componente de R_F 0,56, en relación con aquellas otras conteniendo el componente de R_F 0,53.

Por ello, decidimos recrystalizar cada uno de los residuos por separado y utilizar el valor del poder rotatorio específico de cada una de las fracciones como un criterio de identidad. Combinando pues la información obtenida mediante la cromatografía en papel con los valores del poder rotatorio agrupamos las distintas fracciones obtenidas del modo que sigue: Fracción núm. 2 (denominada E-1A), fracciones núm. 5 a núm. 16 (denominadas E-2A) y fracciones números 24 a 30, (denominadas E-3A).

Considerando pues, que nos encontrábamos con sustancias únicas procedimos a su identificación.

ALCALOIDE E-1A : SENECONINA

Esta sustancia se cristalizó en acetona obteniéndose unos cristales blancos que funden a 228-230°C. El poder rotatorio determinado en cloroformo es $(\alpha)_D = -53^\circ$. El R_F en papel 0,55.

Una revisión de sustancias alcaloídicas aisladas de Senecios y previamente caracterizadas nos permite localizar aquellas que presentan constantes análogas a las aquí indicadas para el alcaloide E-1A.;

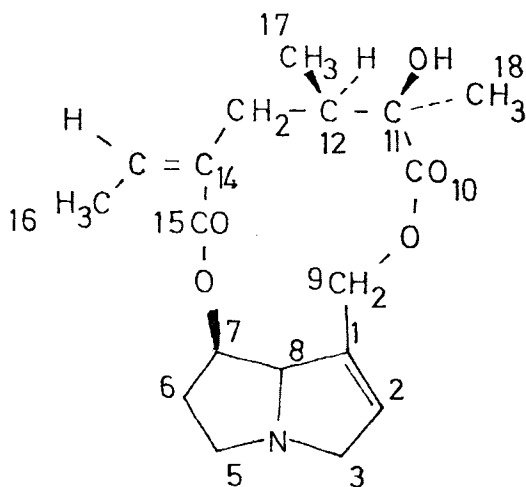
<u>Alcaloide</u>	<u>p.f.</u>	<u>$(\alpha)_D(\text{CHCl}_3)$</u>	<u>$R_F(\text{papel})$</u>
Jacobina	228-230	-46,3	0,36
Monocrotalina	202°C	-55°	0,29
Retrorsina	216°C	-62°	0,36
Senecionina	245°C	-56°	0,56

Vemos que no hay una coincidencia total en las constantes físicas pues cuando el punto de fusión y poder rotatorio se encuentran dentro de un intervalo prudencial de error, el valor del R_F en papel dista del determinado por nosotros para E-1A (caso de Jacobina, Monocrotalina y Retrorsina), mientras que en el caso de Senecionina los valores del poder rotatorio y R_F , coinciden totalmente y sin embargo el punto de fusión se encuentra alejado del que indica la literatura química.²

No obstante consideramos que la identidad de poder rotatorio y R_F merecía que explorásemos por otros medios la identidad de estas dos sustancias. El picrato de E-1A funde a 197-200°C, mientras que el reseñado en la literatura química³, para el picrato de Senecionina lo hace a 190-191°C. Se mantenía pues la posibilidad de una identidad de ambas sustancias.

La confirmación de que E-1A efectivamente es Senecionina nos la dan los espectros de resonancia magnética nuclear, infrarrojo y de masas.

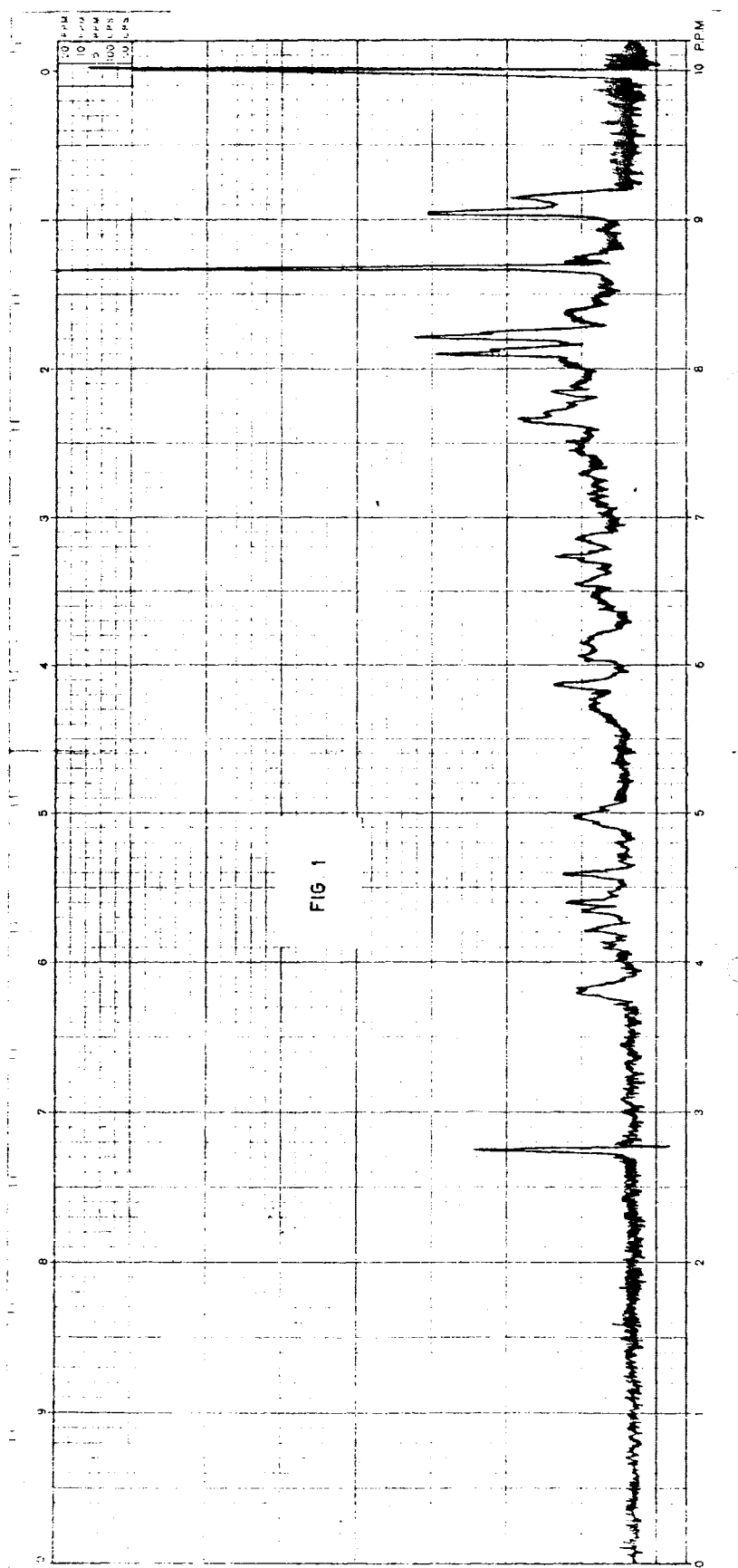
La estructura de Senecionina (1) se representa por la fórmula:



(1)

Las señales más características del espectro de r.m.n. de E-1A obtenido, en CDCl_3 (ver Fig. 1), coinciden con lo que cabría esperar de la estructura indicada más arriba.

En efecto un doblete a τ 9.1, que integra por tres protones se puede asignar al grupo metilo (C-17), que está unido a un carbono que soporta un proton. Un singlete (3H) que aparece a τ 8.7, se atribuye al metilo C-18 - que se une a un carbono que soporta un grupo hidroxilo. -



La zona de los metilos se completa con el doblete que aparece a τ 8.25 y que se atribuye al metilo C-16, unido al carbono olefínico.

La forma de esta señal merece algún comentario. En el espectro se aprecian un hombro en ambas ramas del doblete, una posible explicación es que se tratase de acoplamientos a larga distancia pero también es posible que el citado hombro sea el resultado del solapamiento de dos dobletes de desplazamiento químico muy próximo (8.15 y 8.17), respectivamente).

Estas señales se originarían por dos isómeros geométricos en los que el grupo metilo vinílico fuese *cis*- y *trans*- respectivamente con relación al grupo éster. Ambas sustancias existen en la naturaleza denominándose Senecionina e Integerrimina.

Las constantes físicas de este último alcaloide² son: p.f. 172,5°C (α)_D = +4,3° (CHCl₃) y R_F 0,57 (papel). - Una pequeña cantidad de Integerrimina acompañando a Senecionina explicaría que tanto el poder rotatorio como el punto de fusión fuesen inferiores a las reseñadas en la -

literatura. Asimismo la identidad de la conducta cromatográfica de uno y otro alcaloide impide cualquier intento de purificación por este medio.

Sin embargo la cantidad de integerrimina presenta, debe ser muy pequeña ya que el correspondiente proton olefínico debía aparecer entre 3.0 y 3.5 τ donde no se distinguen señales diferenciadas del ruido de base.

La pequeña cantidad de Senecionina aislada impidió profundizar en esta cuestión. El resto del espectro coincide satisfactoriamente con lo esperado para este alcaloide. - Los protones geminales del grupo alcohólico primario esterificado (C-9) aparecen como dos dobletes ($J=12\text{Hz}$) a τ 6.0 y 4.5 respectivamente. El otro proton geminal al hidróxilo secundario (sobre C-7) aparece como una banda ancha (sus acoplamientos no están resueltos) a τ 5.0. El cuartete correspondiente al protón olefínico de la cadena macrocíclica se centra a τ 4.3 y aparece parcialmente solapado con una de las señales del metileno de C-9. Por último el protón olefínico del núcleo de la pirrolizidina aparece a τ 3.8 como una señal ancha ($W_{1/2}$ 6.5 Hz) que integra por un proton.

El espectro infrarrojo aunque menos decisivo, en caso de moléculas complejas y de estructura similar como ocurre en el problema que estamos tratando, concordaba con una estructura como la que posee la Senecionina, así por ejemplo, en el espectro obtenido en disco de bromuro potásico se observaban dos bandas de ester-carbonilo a 1740 y 1710 cm^{-1} , como corresponde a una función de ester normal y otra conjugada con doble enlace. Asimismo a 1650 cm^{-1} aparece una banda de intensidad débil y asignable al enlace olefínico conjugado. Se aprecian también las bandas de C-O tanto las asignables a enlaces C-O de esteres (1220 y 1240 cm^{-1}), como las asignables a C-O de hidróxilo (1160 y 1190 cm^{-1}). El espectro además coincide en líneas generales con el publicado para este alcaloide⁴.

Por último, obtuvimos el espectro de masas de E-1A - que asimismo nos ayudaría a establecer la estructura del alcaloide.

El espectro de masas muestra el ion molecular M^+ a m/e 335 que corresponde con la fórmula molecular asignada a Senecionina ($C_{18}H_{25}O_5N$) y excluye al mismo tiempo todos

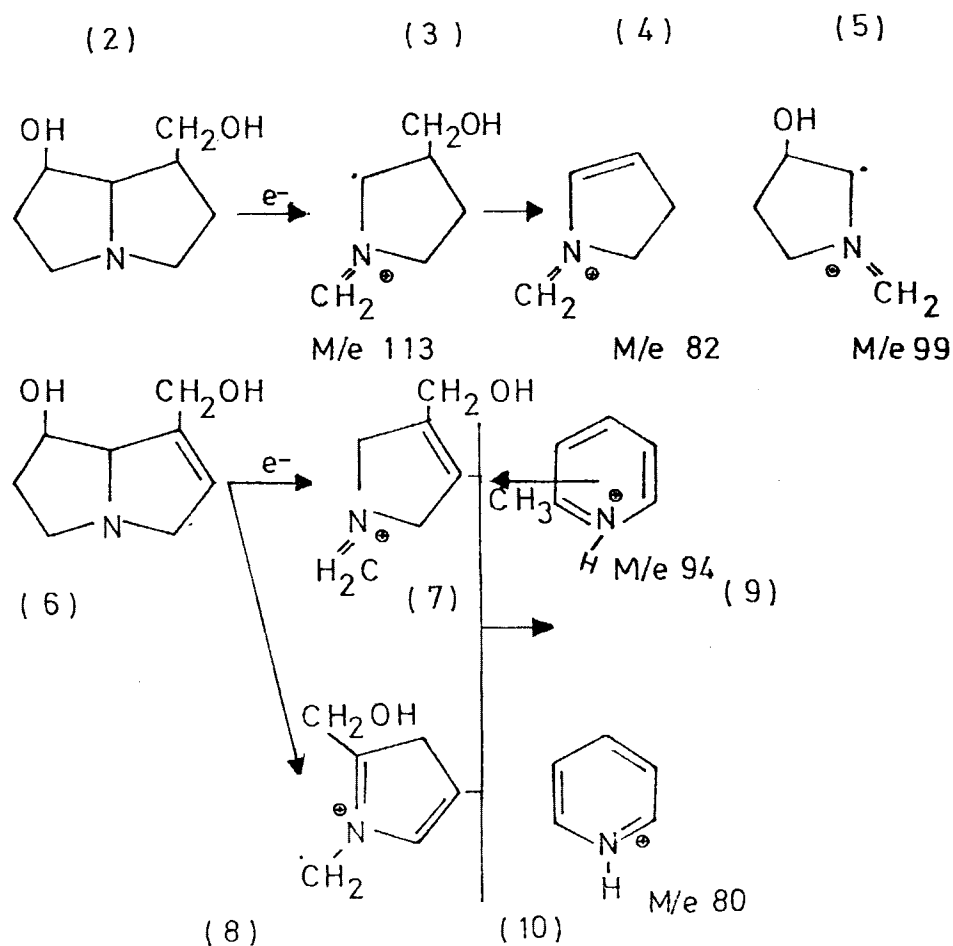
los otros alcaloides que por sus constantes físicas cabía que fuesen idénticos a E-1A.

La intensidad de este ión es bastante notable (17%) - considerando la complejidad de la molécula y su elevado - peso molecular. Precisamente uno de los problemas de la - espectroscopía de masas desde el punto de vista de la quí mica orgánica es que muchas moléculas complejas no dan un ión molecular estable. Esto se debe a la inestabilidad o bien de la propia molécula o del ión molecular, ya que los electrones de bombardeo son de gran energía y este ión se produce en un estado excitado que puede dar lugar a otros procesos de ruptura⁵.

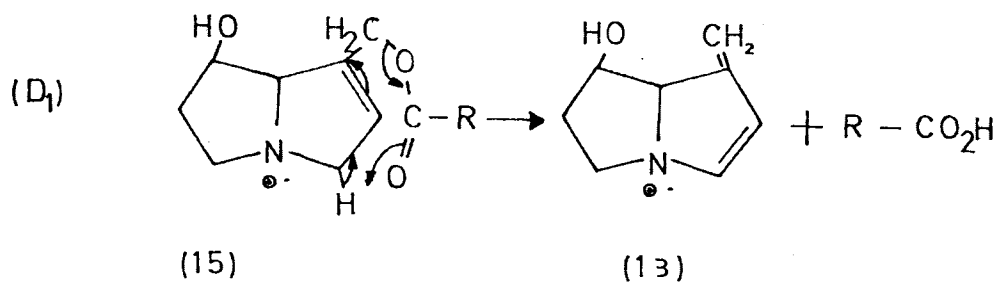
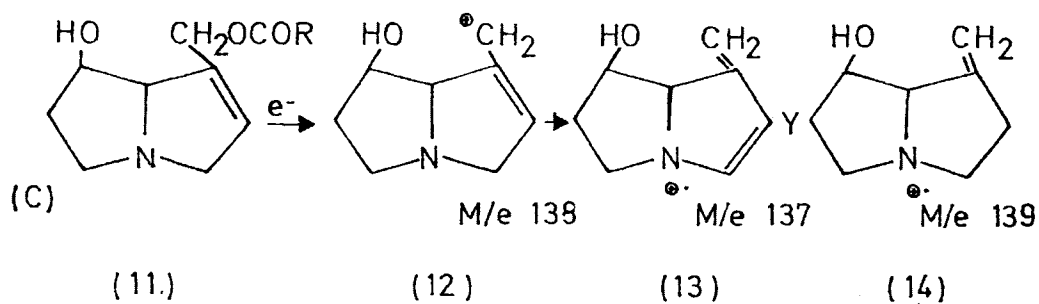
La efectividad de la espectroscopía de masas en el -- campo de los alcaloides está probablemente relacionado -- con el hecho de que estos compuestos son normalmente aminas cíclicas y además suelen contener núcleos aromáticos. Pues bien, el primero de estos factores garantiza que no tendrá lugar una exhaustiva ruptura en β y por consiguiente no habrá pérdida total del ión molecular. Un caso ideal se presenta cuando el átomo de nitrógeno es cabeza de puente

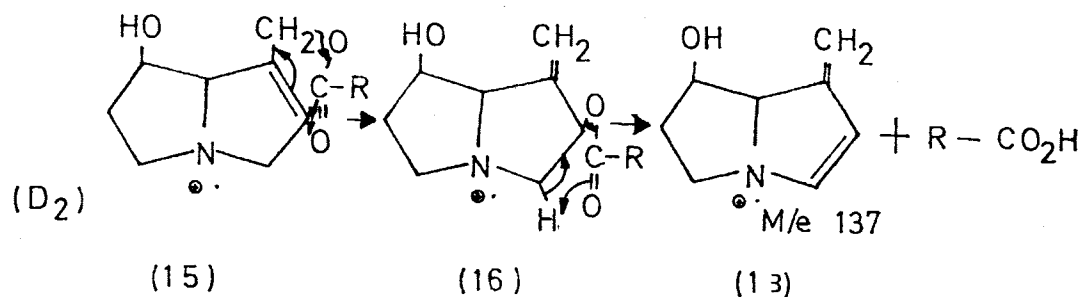
te, como por ejemplo, en los alcaloides de pirrolizidina, obteniéndose entonces un ión molecular abundante⁶.

En moléculas que contienen heteroátomos, la ionización suele ocurrir por eliminación de un electrón no enlazante del heteroátomo, produciéndose así el ión molecular que luego evolucionará sobre todo en aminas terciarias y secundarias por una fragmentación β al N. Así, por ejemplo, en el núcleo de pirrolizidina, la ruptura principal es por los enlaces β al nitrógeno:

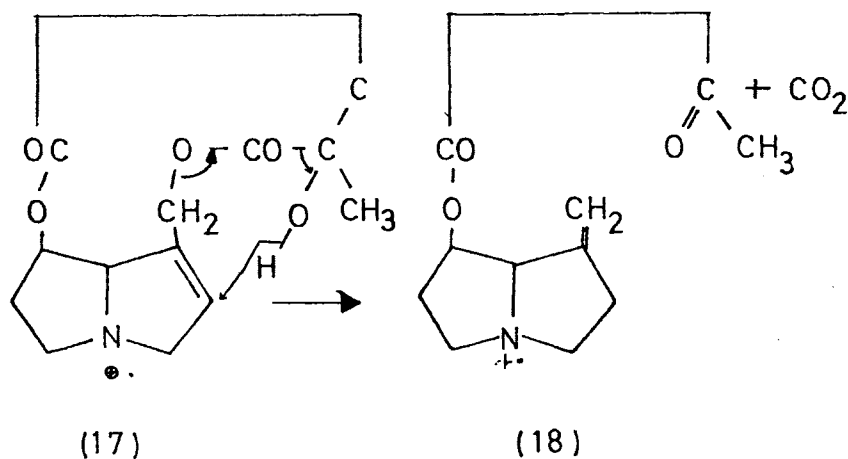


En los alcaloides de pirrolizidina que son esteres alílicos macrocíclicos la ruptura del enlace C_9-O , puede ocurrir de tres maneras distintas dando lugar a tres series de iones que difieren en un número de masa. Puede ocurrir una fisión alílica simplemente (C), un reagrupamiento con pérdida de un átomo de hidrógeno del núcleo de pirrolizidina. Esta pérdida puede ser: en un sistema cíclico de 8 miembros (D_1)⁷, o por 2 reagrupamientos consecutivos en un sistema de 6 miembros (D_2):

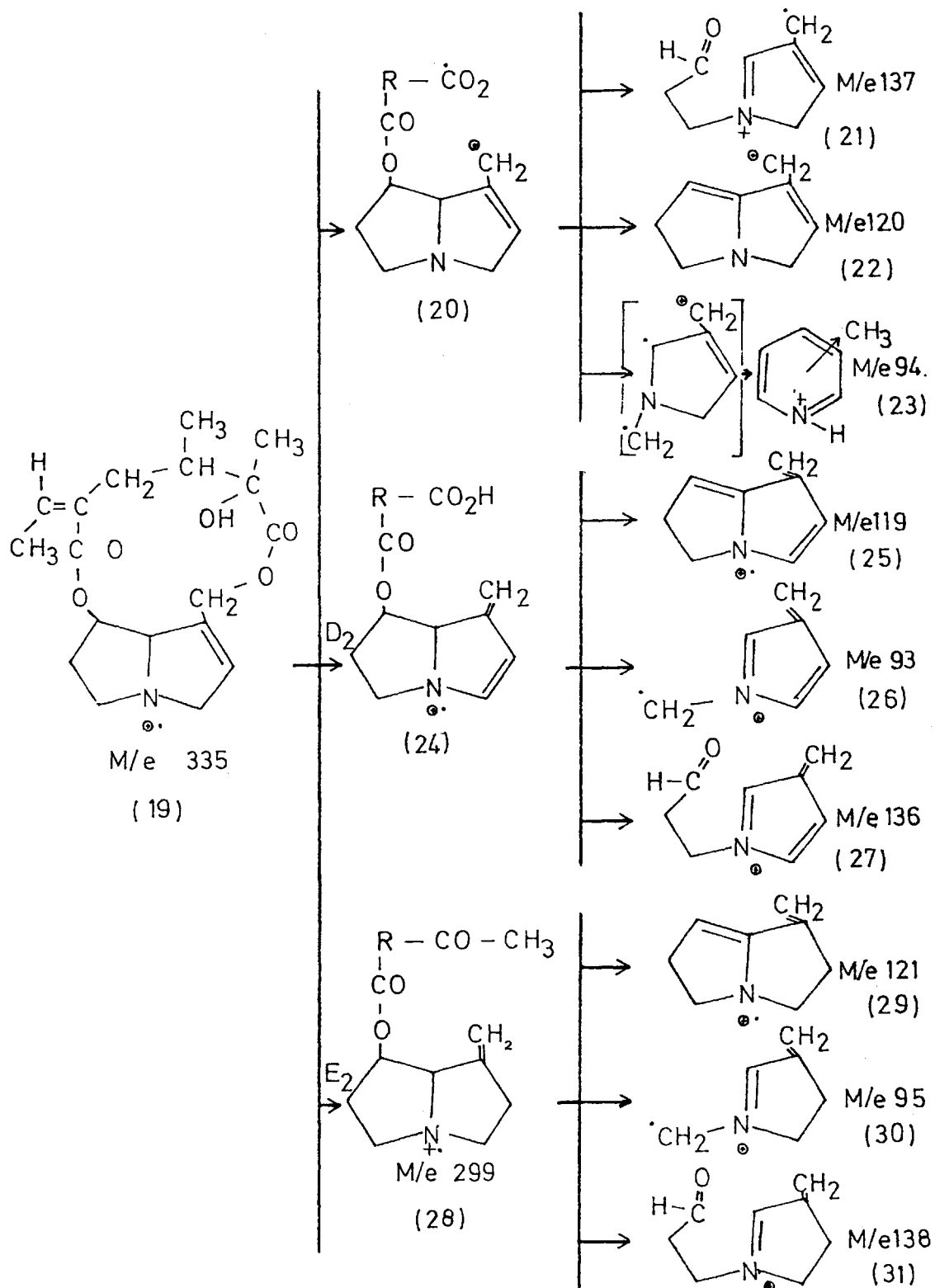




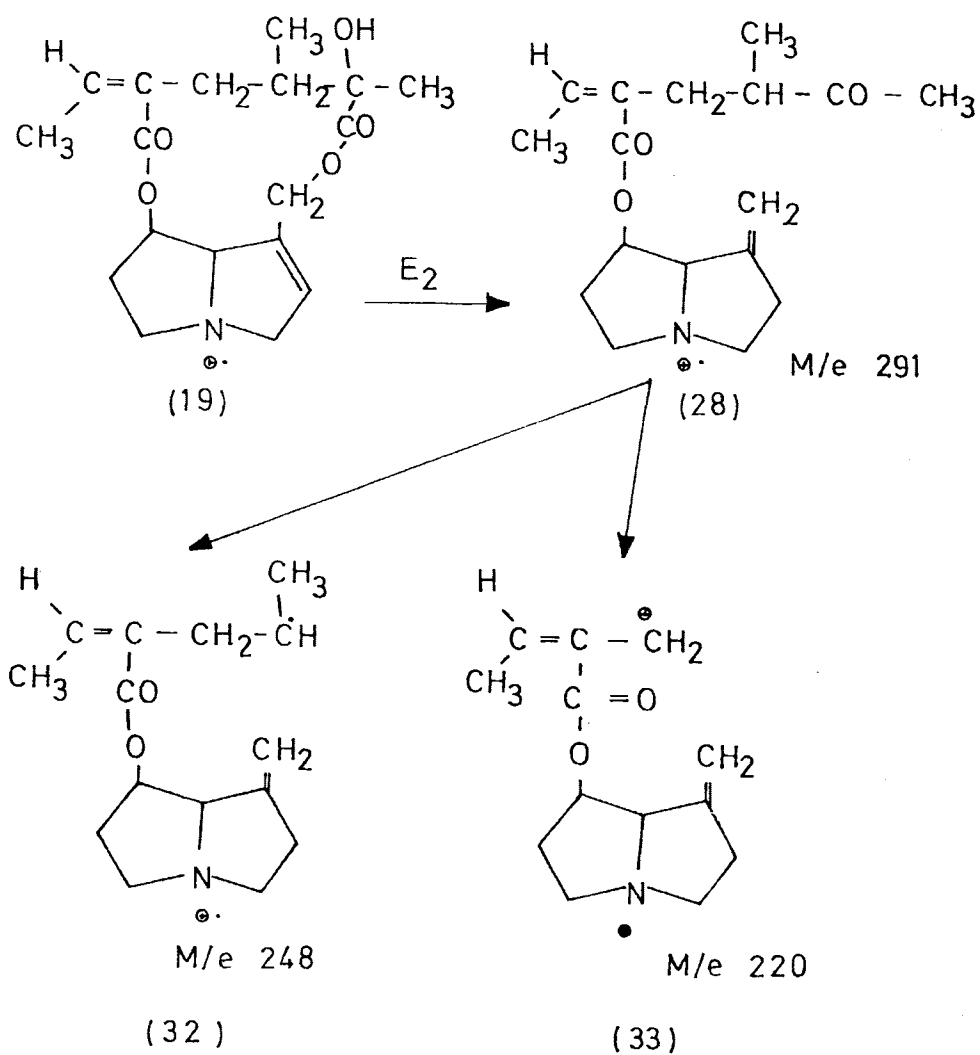
Si existe un agrupamiento alcohólico en α al carboxilo que esterifica al alcohol alílico existe una ruptura especial:



Para el alcaloide Senecionina se puede representar la fragmentación: por:



Puesto que la Senecionina presenta un grupo alcohólico en α al carboxilo presentará una fragmentación especial.



En el espectro de masas de nuestro alcaloide podemos observar, como ya señalamos en la parte experimental, -- las tres series de iones a que antes aludíamos que eran características de los tres tipos de rupturas de los alcaloides de pirrolizidina. Dentro de cada serie tenemos tres señales que difieren en una unidad de masa, así tenemos a m/e

93 (55%)	94 (38%) y 95 (36%)
119 (58%)	120 (73%) y 121 (31%)
136 (100%)	137 (25%) y 138 (43%)

Además, se observan otros dos picos con relativa intensidad a m/e 220 (36%) y 291 (6%) que se corresponden con la última fragmentación a que hemos aludido debido al agrupamiento alcohólico.

Es decir, en el espectro de nuestro alcaloide E-1A, - observamos todos los picos correspondientes a la fragmentación de Senecionina ⁴. Este hecho junto con todo el cúmulo de datos espectroscópicos antes reseñados nos lleva a -

la conclusión de que este alcaloide E-1A se trata de Sencionina.

Para terminar debemos añadir que los datos espectroscópicos obtenidos para E-1A excluyen definitivamente al -- resto de los alcaloides consignados en la tabla precedente.

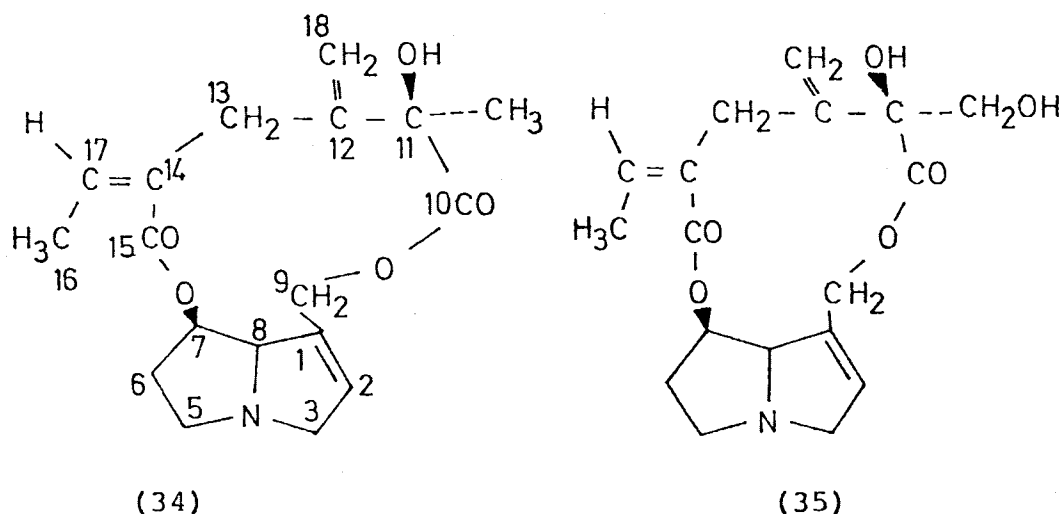
ALCALOIDE E-2A. SENECEFILINA

Esta sustancia fué cristalizada en acetato de etilo obteniéndose unas agujas blancas que funden a 200-203°. El poder rotatorio del producto cristalino es $(\alpha)_D^{20} = -131^\circ$ y su R_F determinado sobre papel es de 0,50.

Son pocas las sustancias conocidas entre los alcaloides del Senecio, que posean un elevado poder rotatorio levógiro. Nosotros hemos encontrado² dos sustancias con esta característica y cuyas constantes son las siguientes:

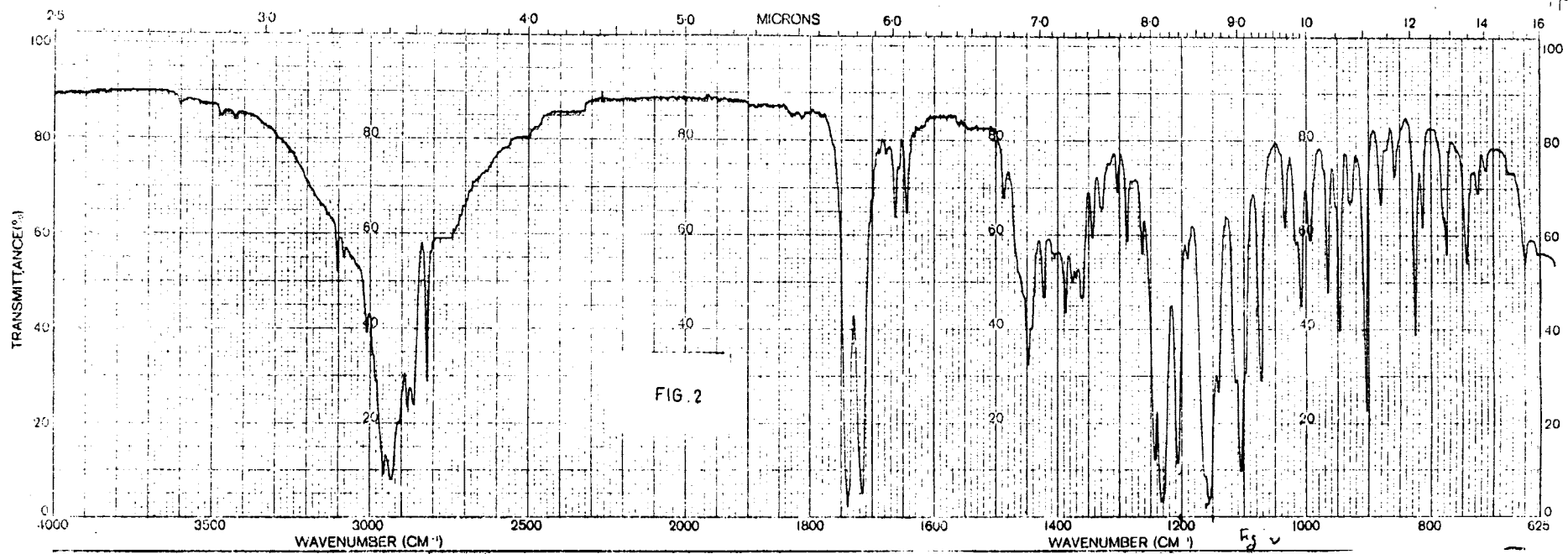
<u>Alcaloide</u>	<u>p.f.</u>	<u>$(\alpha)_D(\text{CHCl}_3)$</u>	<u>R_F (papel)</u>
Senecifilina	217°C	-139°	0,50
Riddeliina	198°C	-109,5°	0,28

Las estructuras de estos dos alcaloides son (34) (Senecifilina) y (35) (Riddelliina)



Ambos alcaloides presentan una característica común y única en el campo de los alcaloides de la pirrolizidina; nos referimos a la existencia de un doble enlace exo cíclico en el anillo del diester. Es de prever que esta circunstancia sea fácilmente caracterizable sobre todo - con ayuda de la espectroscopia de r.m.n.

El espectro infrarrojo (Nujol) de E-2A (Ver Fig. 2), ya nos presenta, junto con las bandas esperadas a 1740 - y 1715 cm^{-1} originadas por un grupo ester sin conjugar y uno conjugarado respectivamente, una serie de bandas a -- 1665, 1645 cm^{-1} y 815, 825, 905 cm^{-1} , de cuyo origen po-

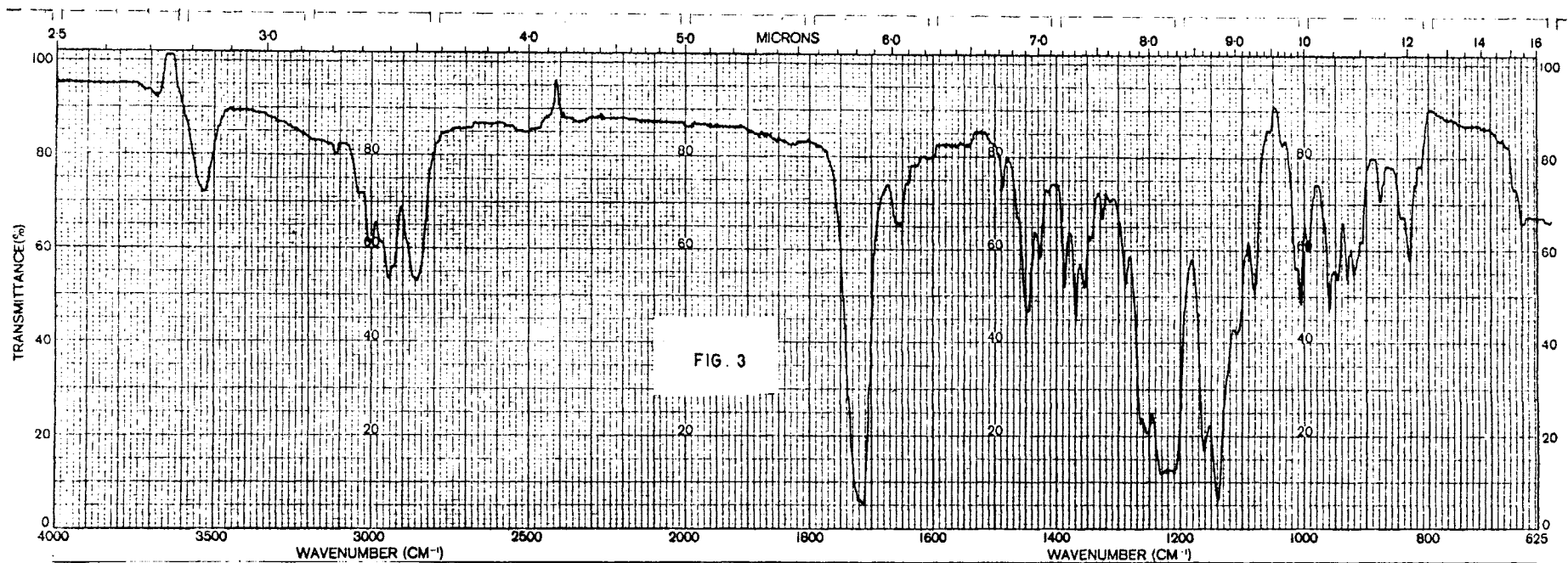


siblemente son responsables la presencia de un enlace olefínico exocíclico junto a otro, u otros, dobles enlaces que normalmente existen en estas moléculas. En efecto, tanto la banda a 1.665 , como la banda a 905 cm^{-1} , se puede - en principio, asignar a la presencia de un doble enlace - exocíclico.

También se aprecian bandas a 1205 y 1245 cm^{-1} , asignables a la vibración de tensión del enlace C-O de un éster y una banda a 1160 cm^{-1} originada probablemente en el enlace C-O de un grupo alcohólico.

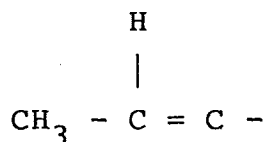
Sin embargo, es de señalar, que en el espectro de E-2A obtenido en Nujol no hay claros indicios de la presencia - de vibraciones de tensión -O-H, lo que prácticamente resulta incompatible con una estructura como la del alcaloide - Riddelliina, donde además del -OH terciario existe una función hidroxílica primaria.

Para tratar de confirmar la presencia o ausencia de absorción de -OH en el espectro infrarrojo de E-2A, obtuvimos un nuevo espectro en solución de cloroformo. En este medio aparece una banda a 3540 cm^{-1} asignable a un grupo -OH asociado intermolecularmente (Fig. 3).

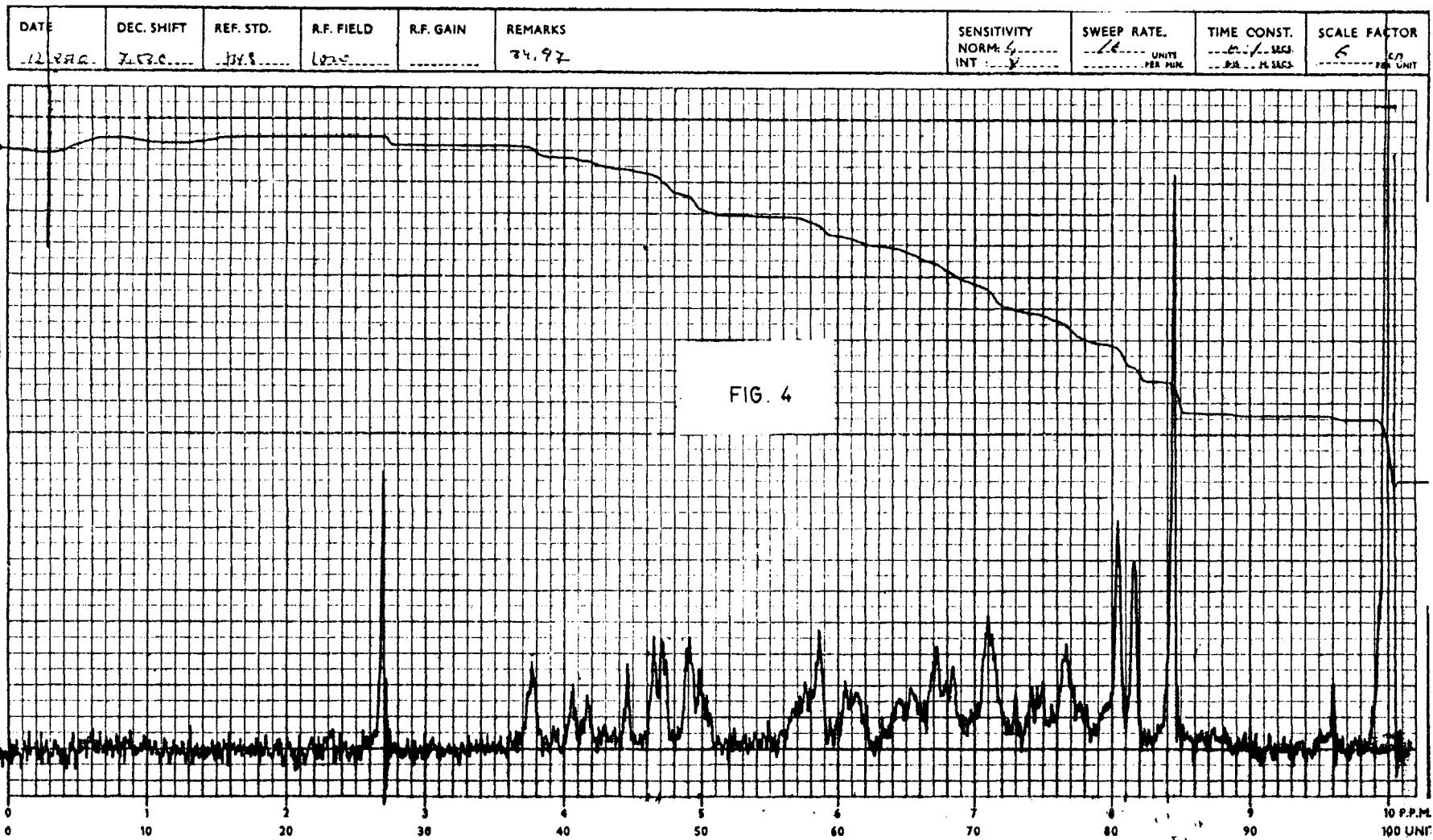


En el espectro de r.m.n. (ver Fig. 4) de esta sustancia E-2A (Senecifilina) que se realizó en CDCl_3 , se observa un singlete que integra por 3 protones a $\tau = 8,45$. Podemos decir por su situación e integración que esta señal es debida a un grupo metilo, pero su desplazamiento es un poco bajo ya que los metilos unidos a un C terciario aparecen alrededor de $\tau=9$. Esta señal se atribuye al metilo --- (C-19) unido al C que soporta un hidroxilo.

Aparece un doblete que integra por 3 protones a $\tau=8,1$. Esta señal, exactamente igual que en el caso anterior, tiene un desplazamiento muy bajo para ser debida a un metilo unido a un carbono saturado, por tanto, parece que este -- grupo estará en un carbono que soporte algún grupo desapantallante. La señal se atribuye al metilo (C-16) unido a un carbono olefínico:



A $\tau=6$ aparece un doblete que integra por 1H y a --- $\tau = 4,55$ existe otro doblete (1H). Ambos tienen la misma constante de acoplamiento, $J = 12\text{Hz}$ y se asignan a los --



protones de C-9, Carbono que soporta la función hidroxílica primaria. Se deduce que estos dos protones H-9 no son equivalentes y se obtiene el pattern típico AB. Esto ocurre -- cuando el ácido que esterifica al grupo alcohólico primario es muy voluminoso y restringe la rotación alrededor del enlace $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{ácilo}$. En los diesteres macrocíclicos, esta rotación está totalmente impedida y la diferencia de desplazamientos químicos en H-9 es máxima (1,5 p.p.m.) en los diesteres cíclicos de 12 miembros como la Senecifilina^{8,9}. En nuestro caso Δ H-9 es de 1,45 p.p.m.

Por otra parte, se ha observado en estos alcaloides de pirrolizidina que cuando el sistema C-9-O-ácilo tiene una conformación fija, como es el caso de los diesteres cíclicos, uno de los protones H-9 está muy desapantallado, pero el otro, queda prácticamente igual.

En nuestro caso, realmente uno de los H-9 da señal en el mismo campo que si estuviese el grupo alcohólico libre⁸, puesto que aparece a $\tau = 6$.

A $\tau = 4,1$ existe un cuartete que integra por un protón y se asigna a la olefina. Esta señal, se debe al proton -

C-17, ya que este protón se acoplaría con el metilo adyacente. En realidad esta señal presenta otros acoplamientos que no están resueltos y que son normales para protones de este tipo.

A $\tau = 3,75$ aparece una banda ancha ($W_{1/2}=4,3$ c.p.s.) que integra por un protón y que se atribuye al protón --olefínico del núcleo de pirrolizidina (C-2).

Aparece otra banda ancha a $\tau = 4,9$ y se asigna al --protón del carbono que soporta la función hidroxílica secundaria (C-7).

Precisamente solapada en parte con esta última señal aparece una de las ramas de un supuesto cuartete AB que se centra a $\tau = 4,8$ y que por su desplazamiento químico podemos asignar a los protones olefínicos del metileno --terminar (C-18).

La presencia de esta señal no nos sirve para dilucidar si el alcaloide E-2A es idéntico a Senecifilina o --Riddelliina (pues éste grupo se halla presente a ambas --moléculas), pero la ausencia de una señal claramente di-

ferenciada (posiblemente un cuartete) y que se pudiese - asignar al metileno del grupo hidroxílico primario que - existe en Riddelliina y lo que es más definitivo, la existencia del singlete de metilo geminal a un grupo hidróxilo, excluyen definitivamente esta última estructura como posible para el alcaloide E-2A.

Ya vimos que también la ausencia de bandas de hidróxilo en el espectro de infrarrojo de E-2A obtenido en Nujol hacía poco probable esta posibilidad.

Por el contrario todos estos datos concuerdan totalmente con las señales reseñadas², para el alcaloide denominado Senecifilina.

En cuanto al espectro de masas, que indudablemente es un dato muy importante en cuanto a determinación de estructuras, podemos decir que el pico molecular aparece a $M^+ = 333$, quedando así determinado el peso molecular de esta sustancia E-2A.

Si comparamos con el espectro de masas de Senecionina observamos que por un lado el ión molecular tiene una pérdida de

dos unidades de masa con respecto a ésta. Por otra parte, vemos que se obtienen los mismos iones que en el caso de Senecionina para los fragmentos que derivan del núcleo de pirrolizidina. Así, por ejemplo, se siguen observando los fragmentos correspondientes m/e.:

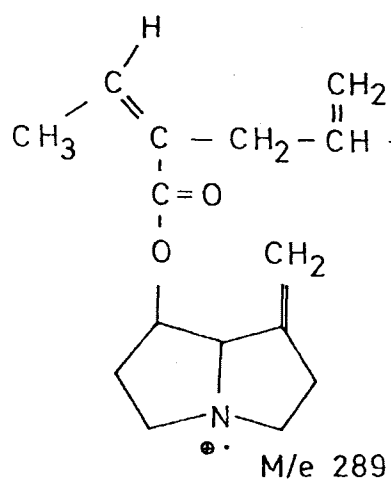
93 (69%) (26)	94 (57%) (23)	95 (94%) (30)
119 (70%) (25)	120 (87%) (22)	

m/e	136 (67%) (27)	138 (44%) (31)
-----	----------------	----------------

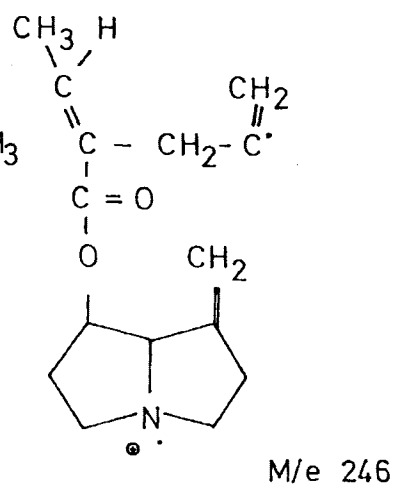
Ya vimos, en la discusión del espectro de masas de Senecionina, que aquellos alcaloides que tienen un grupo hidróxilo en α al carbonilo sufren un nuevo tipo de fragmentación dando lugar a dos iones. Estos iones son M-44, es decir, proviene del ion molecular por pérdida de CO_2 , y M-44-43, es decir, pérdida posterior del grupo $\text{CH}_3\text{-CO}$. Pues bien, en el caso de la sustancia E-2A

(Senecifilina) tambien observamos estos dos iones: M-44/
m/e 289 (10%) y el ion m/e 246 (10%).

Estos iones se pueden representar por:



(36)



(37)

Si comparamos estos iones con sus correspondientes en el caso de Senecionina (28) y (32), vemos que difieren en dos unidades de masa y esto ocurrirá en todos aquellos -- iones en que permanezca el agrupamiento ester ya que es -- ahí en donde estriba la diferencia entre los dos alcaloi-- des.

Todos los iones esperados para Senecifilina, vemos que han sido obtenidos en el espectro de nuestra sustancia -- E-2A. Por tanto, según este cúmulo de datos espectrales, - podemos ya afirmar que la sustancia E-2A es idéntica al al caloide denominado Senecefilina.

ALCALOIDE E-3A: ALLOJACOBINA

Esta sustancia se recrystalizó en acetona obteniéndose se unos cristales blancos que nos sirvieron para determinar sus primeras constantes físicas.

El alcaloide E-3A funde a 197-200°C. Su poder rotatorio determinado en cloroformo es $(\alpha)_D^{20} = -28^\circ$ y su R_F sobre papel Wathman n° 1 y eluyendo con butanol-ácido -- acético 5% (v/v) es 0,42.

Una comprobación preliminar de alcaloides de Senecio de estructura conocida² y que poseyesen estas o análogas constantes físicas nos llevó a agrupar los siguientes alcaloides cuyos datos conocidos no permitían una exclusión "a priori" de su idéntidad con el alcaloide E-3A:

<u>Alcaloide</u>	<u>p.f.(°C)</u>	<u>(α)_D(CHCl₃)</u>	<u>R_F (papel)</u>
E-3A	197-200°	-28°	0.42
Retrorsina	216	-62°	0.36
Monocrotalina	202	-55°	0.29
Jacobina	228	-46°	0.36
Cassipurina	212	-11.8	-

Como se puede apreciar no existe una decidida coincidencia con ninguno de ellos si nos atenemos al valor de (α)_D, pero sobre todo hay una notable discrepancia en lo que respecta al R_F sobre papel, un dato que, en nuestra experiencia, y concretamente en el caso de estos alcaloides en estado puro es bastante reproducible y un buen criterio de identidad.

De todos modos, no cabía ~~excluir~~ la identidad con alguno de estos alcaloides sin disponer de una información espectroscópica, por lo que se inició la determinación de la

estructura de este tercer alcaloide por medio de estas técnicas.

El espectro infrarrojo de E-3A, en solución de tetracloruro de carbono¹⁰, muestra una banda de O-H a 3560 cm^{-1} . En la región de los carbonilos aparecen bandas a 1735 y 1760 cm^{-1} , respectivamente. Quizá sea prematuro especular sobre estos datos pero quisiéramos indicar que no existe una diferencia tan marcada entre la frecuencia de los --CO-- conjugado y sin conjugar, como las que hemos señalado en casos precedentes.

También es digno de mención que las bandas de olefina apenas son perceptibles a 1660 cm^{-1} (ver Fig. 5, traza superior); una serie de bandas a 1180 , 1160 , 1145 y 1120 cm^{-1} nos confirman la presencia de enlaces --C--O-- .

El espectro de r.m.n. se obtuvo en solución de deuterio cloroformo. En la región de los metilos (ver Fig. 6), aparecen señales que integran por nueve protones (3CH_3) y ca racterísticamente todas estas señales aparecen agrupadas entre τ $8,65$ y $8,9$ o sea que en un principio ninguno de

estos metilos aparece ligado a carbono olefínico y, en segundo lugar, ya que existen tres metilos debemos de admitir (aceptando en principio esqueletos del tipo encontrado en alcaloides del Senecio) que el alcaloide E-3A no presenta el grupo metilénico exocíclico que encontramos en E-2A.

Efectivamente una inspección de las zonas a campo bajo del espectro nos revela una notable simplicidad pues entre τ 3,7 y 4,9 solo aparecen cuatro señales que provisionalmente, y teniendo en cuenta nuestra experiencia previa podríamos asignar como sigue:

A τ 3,6 aparece un singlete ancho ($W_{1/2}$ 6 Hz) debido al carbono C-2 de un núcleo de pirrolizidina Δ 1,2 insaturada.

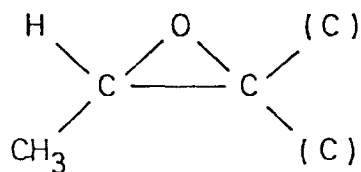
Centrado a τ 4,35 aparecen dos ramas del cuartete AB a que da lugar el grupo metileno de C-9 y finalmente a 4,7 aparece una señal de $W_{1/2}$ 10Hz que debe originarse en el hidrógeno geminal al -OH secundario del núcleo de pirrolizidina (C-7).

No aparece. pues el característico cuartete a que daba lugar el proton de C-17 en los dos casos anteriores, ni -- tampoco aparecen las señales de un metileno exocíclico que encontramos en E-2A, lo que concuerda con nuestras observaciones anteriores en el sentido de que no aparecían grupos metilo ligados a dobles enlaces (tales como C-16), mientras que la molécula poseía efectivamente tres grupos metilo.

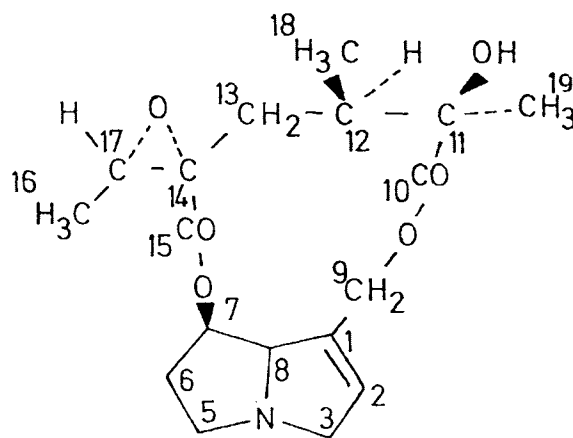
Manteniendo aún una hipótesis estructural que conserve características análogas a las de otros alcaloides del Senecio, las observaciones anteriores cabría explicarlas admitiendo que E-3A es una sustancia en la cual el doble enlace de la cadena macrocíclica está hidrogenado. Sin embargo, esta hipótesis no explica satisfactoriamente ni el desplazamiento químico ni la multiplicidad observada para los grupos metilo de E-3A (ver Fig. 6).

Otra hipótesis, con precedentes en la química de los - alcaloides de pirrolizidina, es que el doble enlace C-14 - C-17 estuviese epoxidado. En efecto entre las señales que se aprecian en el espectro r.m.n. de E-3A, tenemos un doble

te a τ 8.75 y el correspondiente cuartete ($J=6\text{Hz}$) a τ 7.02. Estas señales corresponden satisfactoriamente con las que cabría esperar ¹¹, de una agrupación tipo oxirano.



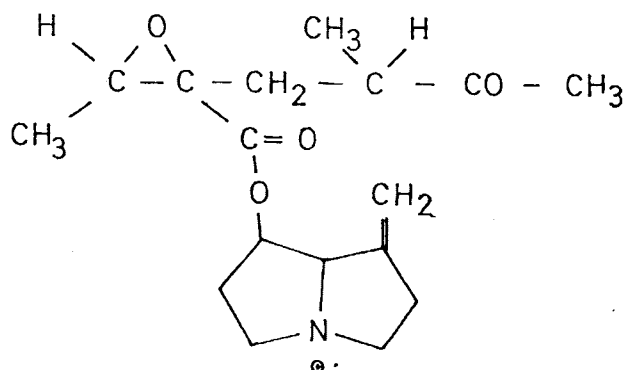
En este supuesto llegamos a la conclusión lógica de que E-3A, debe de poseer una estructura relacionada con la de Jacobina ^{12,13} (38)



Efectivamente el espectro de masas de E-3A nos presenta el ión correspondiente al peso molecular a $m/e = 351$ y que corresponde a una fórmula molecular $C_{18}H_{25}O_6N$ que es idéntica a la de Jacobina. Esta información junto con los anteriores datos espectroscópicos definitivamente excluye todas las posibilidades de identidad con los alcaloides reseñados en la tabla precedente, excepto con Jacobina ^{14,15}.

Desgraciadamente el espectro de masas no ofrece información que pudiese considerarse determinante en el establecimiento de la estructura de E-3A, ya que la fragmentación es bastante similar a la encontrada en casos anteriores - apreciándose los fragmentos: m/e 93 (76%), 94 (76%) y 95 - (76%); 119 (76%), 120 (76%) y 121 (74%); 136 (74%) y 138 - (100%), originados por el anillo de pirrolizidina.

Se aprecia un pico de m/e 307 ($M^+ - 44$) (36%) que podría representar como sigue:



(39)

En este punto de nuestra investigación consideramos que un medio rápido de establecer la posible identidad de E-3A y Jacobina sería llevar a cabo una comparación directa con una muestra auténtica de Jacobina.

Esta nos fué suministrada por Culvenor^(*). El resultado del espectro infrarrojo obtenido con E-3A y Jacobina auténtica lo podemos observar en la Fig. 5

(*) Agradecemos al Dr. C.C.J. Culvenor, C.S.I.R.O., Australia, el envío de una muestra de alcaloide.

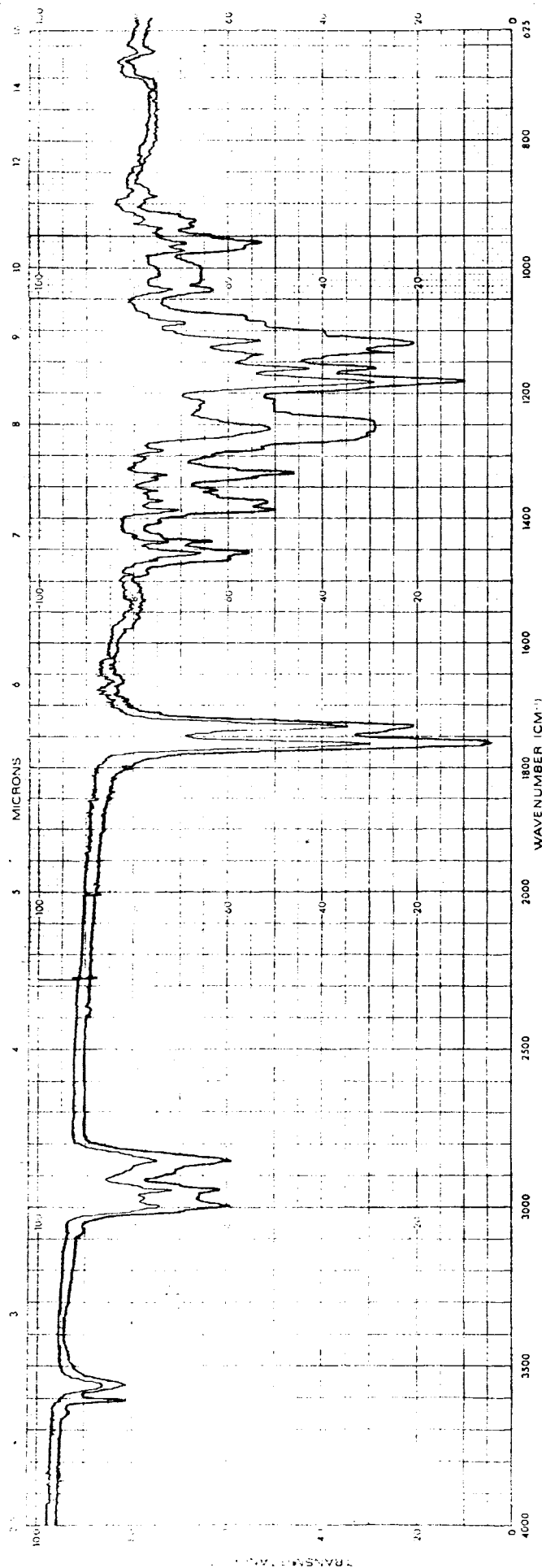


FIG. 5

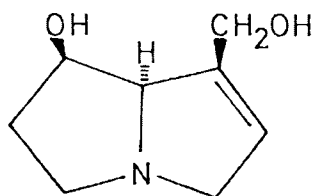
Es indudable que existen suficientes diferencias como para deshechar la hipótesis de que estas sustancias sean idénticas. Entre estas diferencias la más significativa es la que presenta en la región de absorción del enlace O-H.

Mientras que Jacobina (traza inferior) presenta banda de -OH libre a 3.610 cm^{-1} (-OH terciario) y -OH asociado a 3560 cm^{-1} , el espectro de E-3A presenta solo banda de -O-H asociado a 3.560 cm^{-1} .

Por lo tanto si, como todos los datos parecen indicar, la estructura de Jacobina está íntimamente ligada a la de E-3A, podemos en principio pensar que esta diferencia sea estereoquímica más bien que estructural ya que la similitud de espectros de r.m.n., masas e infrarrojo así parecen indicarlo.

En este supuesto debemos esclarecer, en primer lugar, si la singularidad estereoquímica de E-3A se presenta en el núcleo de pirrolizidina o en la cadena macrocíclica.

La primera posibilidad se puede excluir fácilmente ya que la base pirrolizidínica (base néctica) que se obtiene por hidrólisis de E-3A es en todo idéntica a retronecina aislada igualmente por hidrólisis del alcaloide Senecifilina (E-2A) y cuya estructura, con estereoquímica, es conocida siendo:



(40)

Por lo tanto la supuesta diferencia en estereoquímica debe presentarse en la cadena macrocíclica del diester. -

Una observación de la fórmula de Jacobina (ver fórmula núm. 38), nos indica que hay tres centros posibles en los que se puede dar una diferencia estereoquímica y son éstos C-11, - C-12 y el anillo oxiránico.

En principio parecía fácil determinar, con los datos - que ya poseíamos cual era la estereoquímica relativa del - anillo oxiránico.

Cuando existe un doble enlace entre los carbonos C-14 y C-17, hemos visto que es fácil determinar cual es la -- isomería geométrica de este doble enlace (p.ejemplo en el caso de Senecionina y Riddelliina) por cuanto pese a la - enorme movilidad conformacional del anillo de doce miembros, el hecho de que este doble enlace se haya conjugado con el grupo carbonilo del ester mantiene esta agrupación conformacionalmente rígida y hace que el sustituyente vinílico en posición cis, con relación al carbonilo esté fuertemente desapantallado ($\Delta \delta$ 0,5-1,0 τ). Así, pues, un protón en esta configuración aparece a 3,5 τ aproximadamente, - mientras que si se encuentra en posición trans con relación al -CO- aparece entre 4.0 y 4.5 τ , valores normales de un protón olefínico.

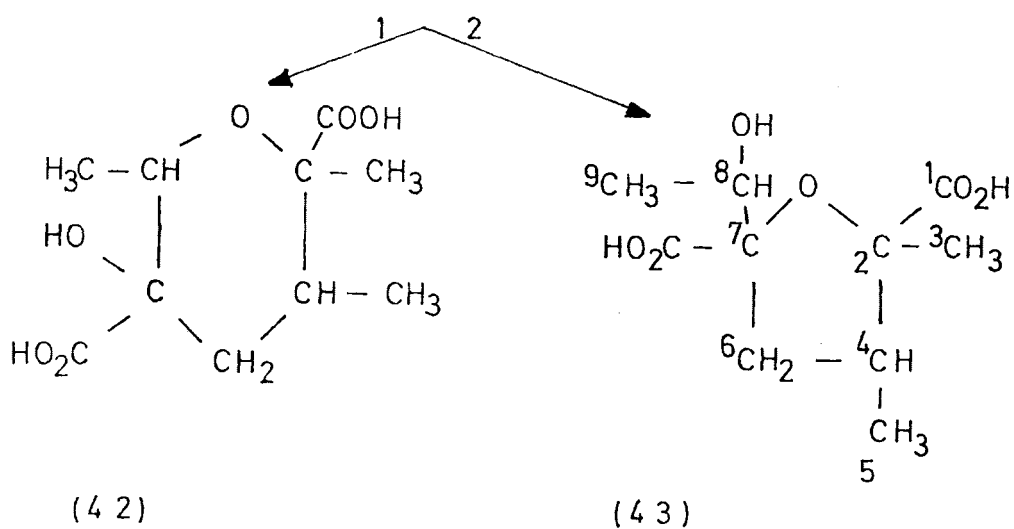
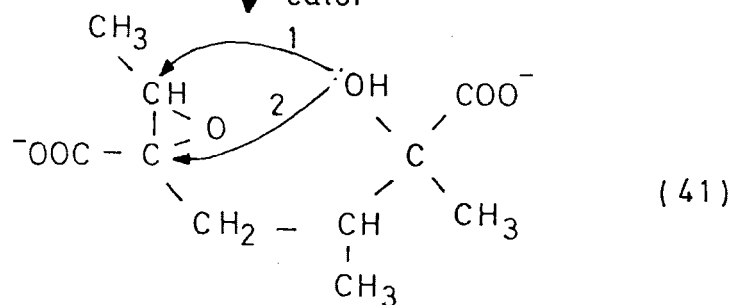
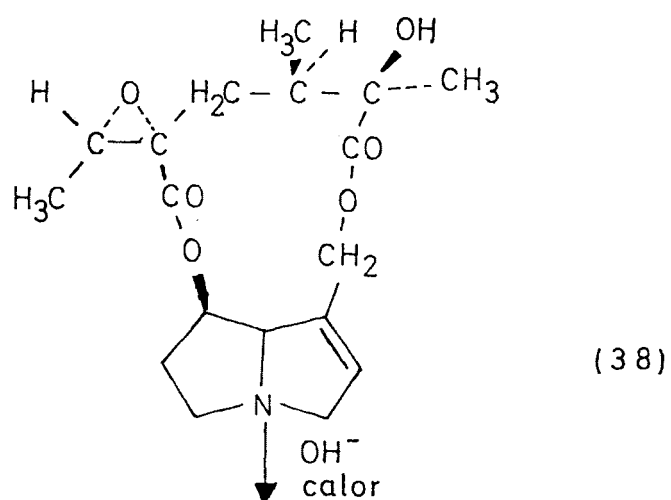
El hecho ya reseñado de que tanto el proton como el - grupo metilo del anillo oxiránico aparecen a valores normales para este tipo de compuestos y que esto sucede tanto en el caso de Jacobina como en el caso del alcaloide E-3A, impide sacar conclusión alguna acerca de la estereoquímica de este anillo en relación al grupo -CO- del ester.

Parece pues evidente que hay un cambio conformacional al epoxidarse el doble enlace $\Delta^{14,17}$, que se pone de manifiesto en un alejamiento de los sustituyentes del anillo - oxiránico de las zonas de anisotropía magnética originadas por el grupo -CO-.

El problema pues del establecimiento de la estereoquímica del anillo oxiránico requiere el aporte de nuevos datos experimentales y queda ligado al estudio de la estereoquímica de los otros dos centros asimétricos.

El esclarecimiento de este problema se consigue mediante la hidrólisis del alcaloide e identificación de los productos formados.

Según Bradbury y Masamune ¹⁶, la hidrólisis del alcaloide de Jacobina transcurre de acuerdo con el esquema siguiente:



Hay pues una apertura del anillo oxiránico además de la hidrólisis del diéster; apertura que da lugar a la formación de dos ácidos denominados isojaconécico (42) y jaconécico (43) respectivamente. Estos productos se producen -- por el ataque nucleófilo del hidroxilo terciario sobre el anillo de epóxido.

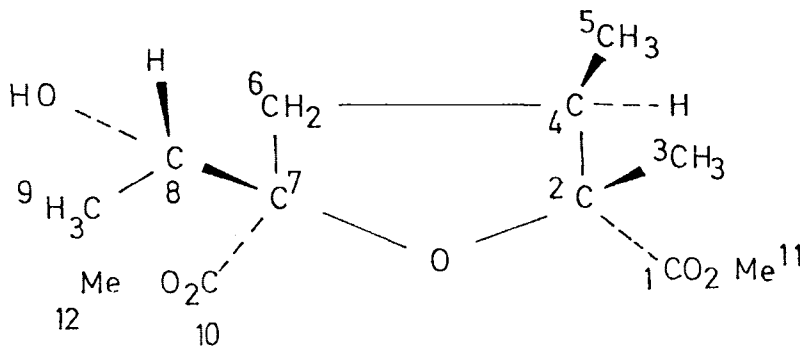
La hidrólisis del alcaloide E-3A se realizó conforme se describe en la parte experimental (potasa metanólica). La separación de los ácidos jaconécico e isojaconécico descrita en la literatura ¹⁶, hacía uso de un proceso de cristalización fraccionada o de una tediosa separación utilizando dos columnas de resinas cambiadoras para separar estos dos ácidos. Nosotros no consideramos este proceso adecuado, dada la pequeña cantidad de sustancia de que disponíamos por lo que decidimos llevar a cabo una separación - cromatográfica. Para facilitar esta separación los ácidos aislados de la hidrólisis fueron convertidos directamente en sus esteres metílicos por tratamiento con diazometano.

La separación se hizo en placas de gel de sílice preparativas. Se aislaron dos sustancias que denominamos EM-1 y

EM-2, con las que se obtuvo información espectroscópica.

El espectro de r.m.n., obtenido en deutero-cloroformo, de EM-1 es bastante simple y concuerda bastante bien con la estructura asignada¹⁶ al jaconecato de metilo (43). Observamos tres señales a τ 8.95, 8.55 y 8.65 que se deben obviamente al singlete originado por C-3 (τ 8.65), un doblete de C-9, centrado a 8.8 y un doblete de C-5 centrado a 8.9. Efectivamente la señal correspondiente del proton de C-8 aparece como un cuartete a τ 5.85 ($J = 6$ Hz). Por último indicaremos que los dos metilos de los grupos ester aparecen a 6.20 y 6.25 τ (Ver Fig. 7).

El espectro infrarrojo coincide en líneas generales -- con el publicado para dimetil jaconecato¹⁷ (44). Presenta banda de carbonilo a 1750 cm^{-1} y una serie de bandas a -- 1.300, 1.200, 1.150 y 1.120 de tensión de C-O (44).



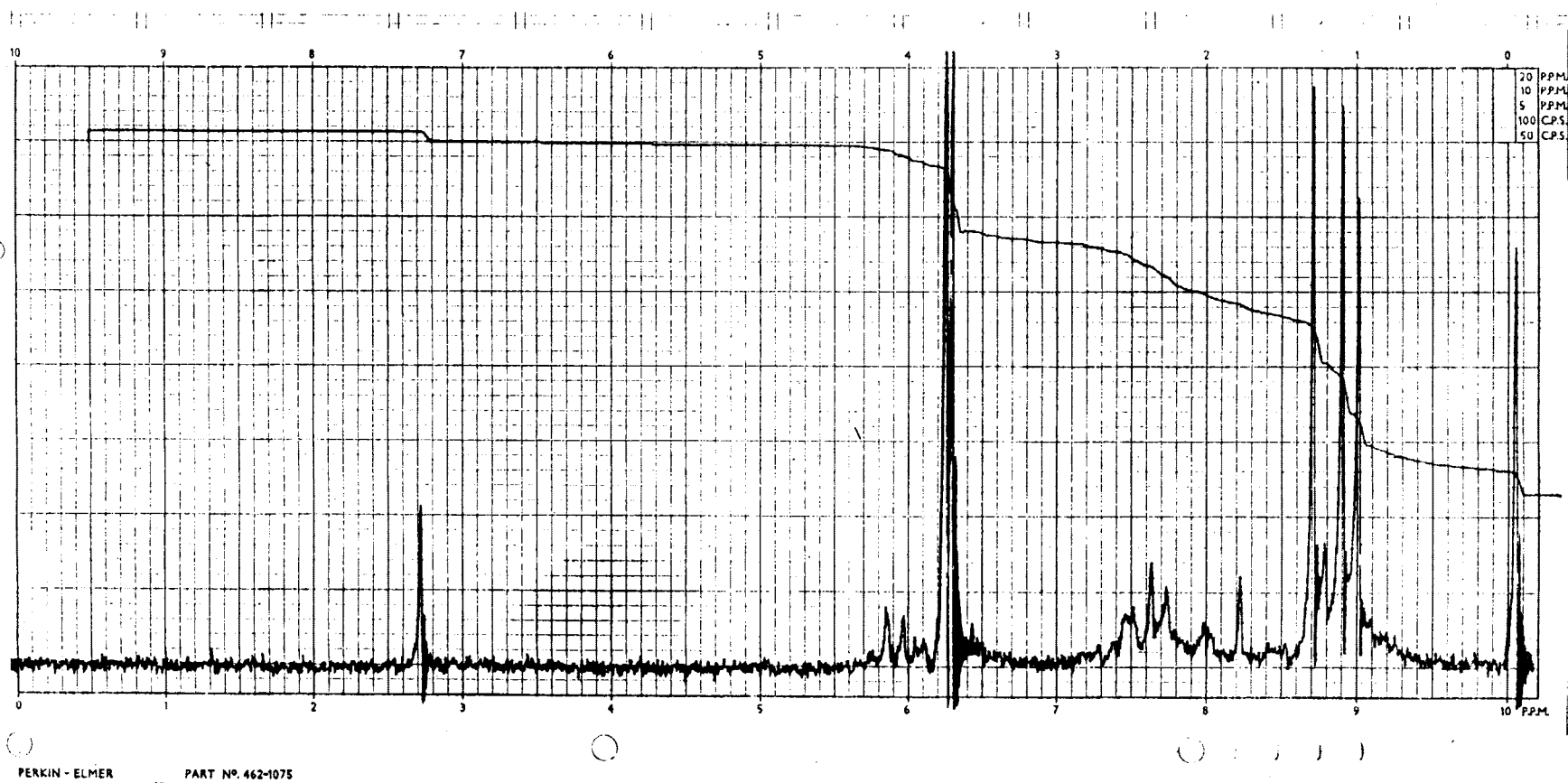


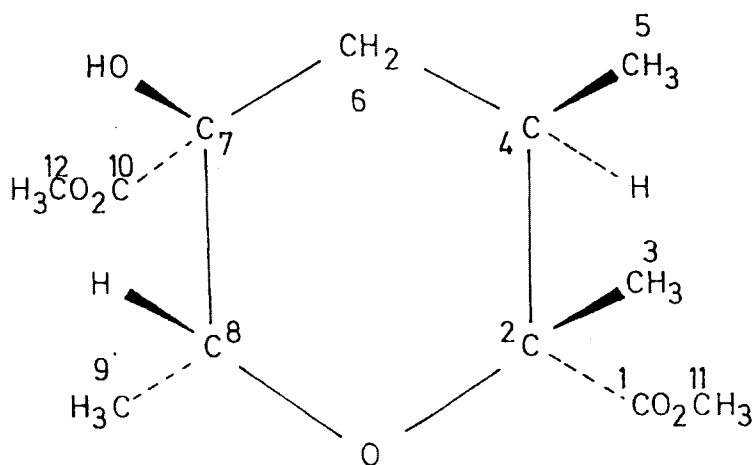
FIG. 7

Sin embargo, más valor que el que nos ofrecen estos espectros como elementos de identificación (hay que considerar que el espectro infrarrojo de EM-1 y el publicado para el dimetiljaconecato estan realizados en distintos instrumentos y que el espectro r.m.n. del dimetiljaconecato se efectuó originariamente en un aparato de 40 MHz y utilizando benceno como referencia interna¹⁶), cabe esperar del valor del poder rotatorio específico.

Según nuestra hipótesis de trabajo, es de suponer que como resultado del ataque del hidroxilo terciario sobre el anillo oxiránico se produzca una estereoquímica diferente sobre los carbonos C-7 y C-8 (Ver fórmula 44), a la que -- existe en los ácidos jaconécico e isojaconécico. El valor obtenido para $(\alpha)_D^{22} = + 23.6$ (etanol, c 1.6) del producto EM-1, así parece indicarlo ya que el publicado¹⁷, para el diester metílico del ácido jaconécico es $(\alpha)_D = + 28.2$ (etanol).

La diferencia en el poder rotatorio es apreciable pero no decisiva, sin embargo se confirma con el segundo producto aislado de la hidrólisis y que debía coincidir con el

isojaconecato de metilo (45) .



(45)

El espectro r.m.n. de EM-2 concuerda con el publicado¹⁶ para el isojaconecato de metilo (45). Hay dos dobletes a τ 9.15 y 8.85 debidos a C-5 y C-9, respectivamente, más un singlete a τ 8.7 debido a C-3, junto con los dos singletes de los metilos de ester a τ 6.1 y 6.2. El espectro es muy débil debido a la pequeña cantidad aislada del producto EM-2 y no se aprecian bien las señales debidas a un solo protón tal como los de C-8.

El espectro infrarrojo (Fig. 8), de EM-2 (entre cristales) muestra una banda ancha de hidroxilo (-OH) centrada en

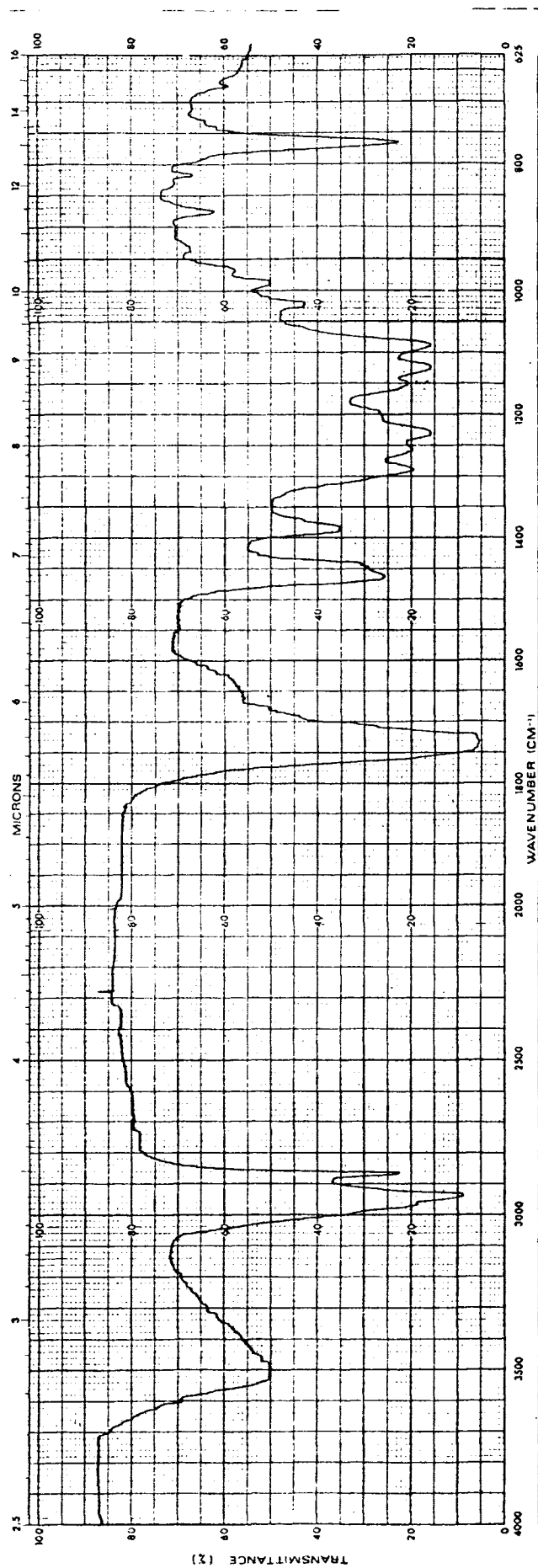


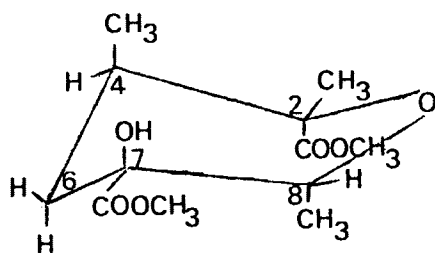
FIG. 8

3.500 cm^{-1} , una banda ancha de carbonilo centrada a 1730 cm^{-1} y una serie de bandas de tensión -C-O a 1260, 1230, 1150, -1125 cm^{-1} . Cuando se compara este espectro con el publicado para el isojaconecato de metilo¹⁶ se observan notables diferencias ya que en este último aparecen dos bandas de hidroxilo a 3.690 y 3.570, como asimismo dos bandas de -CO- a 1722 y 1739.

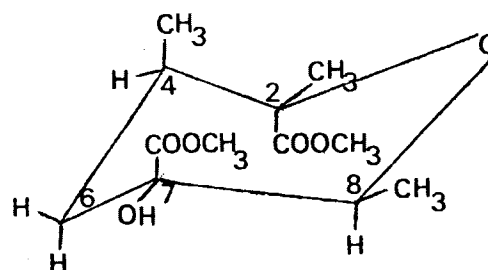
Estas diferencias se acentúan al determinar el poder rotatorio de EM-2. El valor experimental de $(\alpha)_D^{22^\circ} = +35^\circ$ (etanol C 1.1.) contrasta con el publicado¹⁶ de $(\alpha)_D = +98^\circ$ (etanol, $c = 1.5$), para el isojaconecato de metilo.

El valor obtenido para EM-2 fué confirmado después de someter esta sustancia a un proceso de purificación mediante destilación a vacío (0,1 mm/Hg).

Resumiendo nuestro razonamiento, podemos concluir que mientras las fórmulas conformacionales del isojaconecato de metilo es (46) la de EM-2, sería (47) donde están invertidas las configuraciones de los carbonos C-7 y C-8.

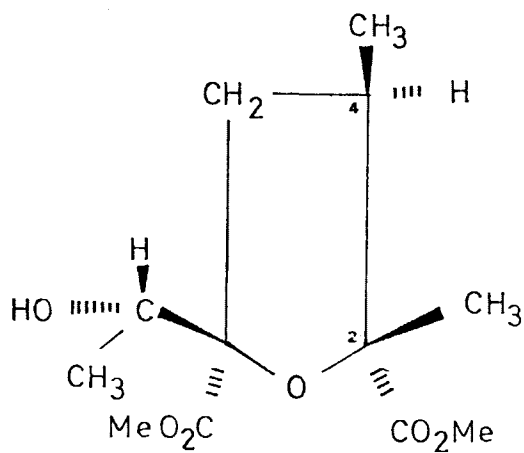


(46)

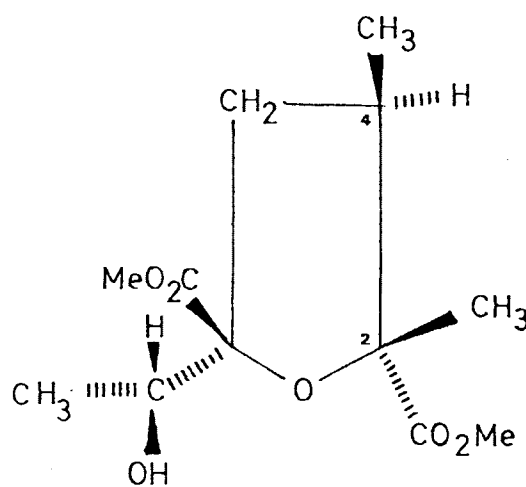


(47)

Se trata de dos sustancias totalmente distintas. Lo mismo cabría decir de las correspondientes EM-1 y jaconecato de metilo cuyas fórmulas serían (48) y (49).



jaconecato (49)



EM-1 (48)

Para escribir las fórmulas (47) y (48), para EM-1 y -EM-2, hemos de admitir que la estereoquímica de C-2 y C-4 es la misma en jacobina y en el alcaloide E-3A. Este supuesto parece bastante fundado si tenemos en cuenta lo -- que se conoce sobre la biogénesis de estos alcaloides (ver Introducción) y el hecho experimental de que hasta el presente todos los alcaloides con cadena macrocíclica de diester presentan la misma estereoquímica sobre estos átomos de carbono cualesquiera que sea el grado de oxidación del ácido dicarboxílico.

También hemos incorporado a nuestras fórmulas (46) y - (49), nuestra deducción posterior de que la estereoquímica relativa a la disposición de los grupos metilo y átomo de hidrógeno sobre C-17 del oxirano es idéntica en E-3A y Jacobina.

Todas estos supuestos razonablemente fundamentados en consideraciones biogenéticas quedan plenamente confirmadas al conseguir relacionar directamente nuestro alcaloide E-3A con el alcaloide Senecionina.

Nosotros postulamos que el alcaloide E-3A posee la estructura de Senecionina en la cual el doble enlace $\Delta^{14,17}$ se encuentra epoxidado por la cara beta del plano de la molécula.

En la literatura química existen varios procedimientos que permiten convertir un epóxido en olefina. Así, por ejemplo¹⁸, la reducción con cloruro cromoso en atmósfera inerte.

Cuando esta reducción se llevó a cabo con E-3A se observó, mediante cromatografía sobre papel Wathman n° 1, junto al producto de partida la formación de una nueva sustancia que denominamos R.

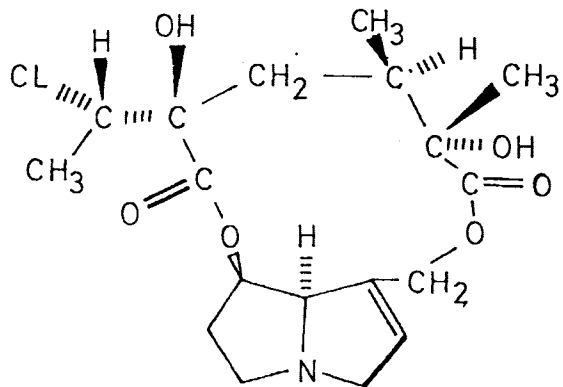
El espectro de r.m.n. de la sustancia R nos indica que no se ha formado la deseada olefina, pues no aparecen señales distintas de la originada por el proton de C-2, que se pudieran asignar a un proton olefínico acoplado a un grupo metilo (cuartete a 3.5-4.5 τ).

La zona de metilos nos muestra junto a un singlete a τ 8.7 (C-19) y un doblete a τ 8.8 (C-18) un doblete -- (J = 6H₂) a τ 8.5 y ausencia del característico cuartete

a τ 7.0 (aproxim.) propia del átomo de hidrógeno de C-17 en el anillo oxiránico.

Interpretamos que este producto R se ha formado por -- ataque del ión Cl^- sobre el anillo oxiránico produciendo su apertura e incorporación de un átomo de cloro a la molécula. Mecanísticamente es de suponer que este ataque ha tenido lugar sobre C-17 en preferencia a C-14. En este su-- puesto, el -OH formado por apertura del anillo de epóxido sería terciario, hecho que quedó plenamente demostrado en el laboratorio. En efecto, cuando el producto R se somete a oxidación con reactivo Jones a temperatura ambiente se re-cupera inalterado.

Lo mismo sucede en un intento de acetilación (anhídrido acético/piridina a temperatura ambiente), que nos conduce -- igualmente a la recuperación del producto inicial inalterado. Por lo tanto a R la asignamos la estructura (50):



(50)

Otro método ensayado para transformar un epóxido en olefina consiste en tratar el epóxido con seleniocianato potásico².

El alcaloide E-3A disuelto en etanol acuoso (50%) se trató¹⁹ con una solución etanólica del selenio-cianato potásico²⁰. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente durante varios días durante los cuales un control de la reacción mediante cromatografía en papel nos indicó que ésta no progresaba o lo hacía muy lentamente.

Se mantuvo a reflujo durante 12 horas y al cabo de este tiempo se observó la aparición de un compuesto de R_F -- 0.55 en cantidad casi igual a la del producto de partida.

Este nuevo producto se separó en columna de Celita-545, denominándose SEC-II. La sustancia se cristalizó de acetona y con el producto cristalino se obtuvieron las constantes físicas: p.f. $240-2^{\circ}\text{C}$, $(\alpha)_D^{22^{\circ}} = -53^{\circ}$.

Por último, a fin de confirmar plenamente la identidad de SEC-II y Senecionina obtuvimos sus espectros infrarrojo en condiciones idénticas. En la Fig. 9 se puede apreciar -- la plena concordancia y por tanto la identidad de estas -- dos sustancias.

De esta forma queda plenamente demostrada la identidad de los centros asimétricos C-11 y C-12 de E-3A y Jacobina, identidad que nosotros habíamos supuesto basándonos en razones biogenéticas. La asimetría de C-14 y C-17 ha quedado afectada en esta transformación al convertir el oxirano en olefina.

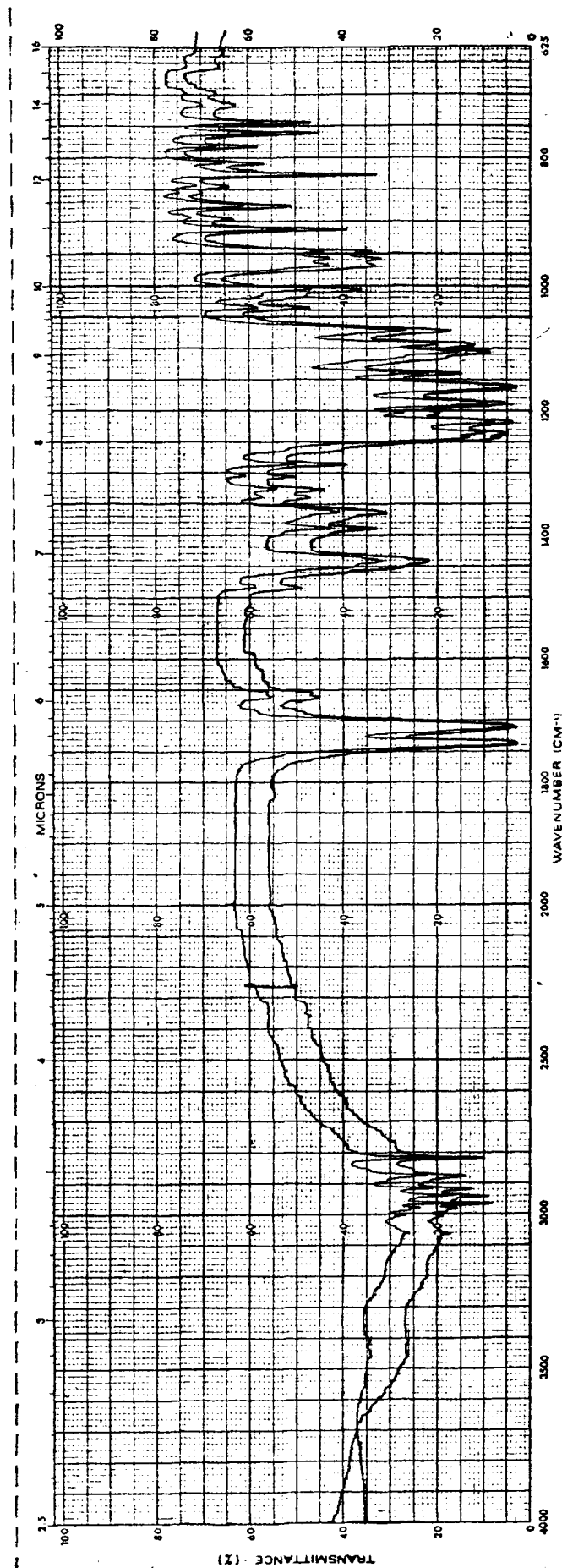


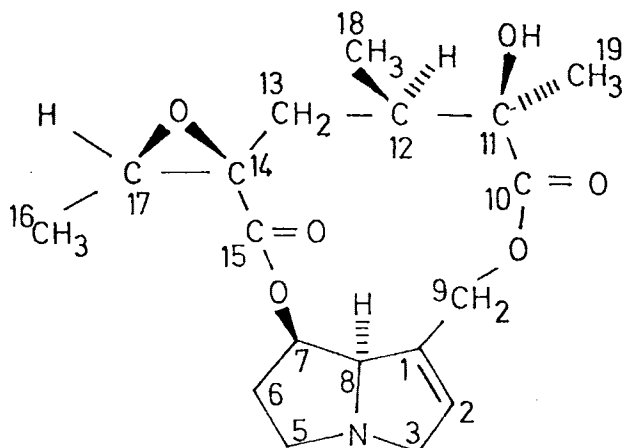
FIG. 9

Aunque no es conocida el mecanismo de la transformación:



precedentes bibliográficos¹⁹ y nuestra experiencia al obtener exclusivamente uno de los dos isómeros geométricos posibles hacen suponer que la transformación tiene lugar manteniéndose la estereoquímica relativa del anillo oxiránico.

Por lo tanto nosotros concluimos que el alcaloide E-3A posee la estructura (51) y la denominamos Allo-jacobina.



(51)

Es muy posible que Allo-jacobina haya sido aislada con anterioridad. Sin embargo, diversos factores tales como la dificultad de purificación y el distinto origen botánico del producto han hecho que no se concediera la debida significación a las variaciones que se apreciaban en las constantes físicas. Por otro lado, como ya hemos indicado, los datos espectroscópicos resultaban bastante coincidentes y - en pocas ocasiones se llevó a cabo una comparación directa de distintas muestras. No obstante en el rastreo bibliográfico que nosotros hemos efectuado aparecen bastantes indicios de que se ha estado trabajando con sustancias diferentes a las que se atribuía la estructura común de Jacobina.

El trabajo más significativo que ha permitido asignar la estructura (38) a Jacobina ha sido efectuado por Bradbury y Masamune^{15,16} con muestras de Jacobina aisladas del S. - jacobina que exhibe las constantes físicas reseñadas en la - Tabla precedente para este alcaloide. En su publicación relativa al aislamiento¹⁶ de este alcaloide ya admiten los - autores que otras muestras de este alcaloide, aunque indistinguibles de otro modo, dan poderes rotatorios distintos, tal ocurre con la Jacobina de Barger y Blackie¹⁷ (de Sene-

cio cineraria) o la aislada por Manske¹⁸, a las que suponen impurificadas.

Quizá sea significativo que en la hidrólisis de Jacobina realizada por Bradbury y Masamune¹⁶, se aislaron por primera vez los ácidos jaconécico e isojaconécico, mientras - que hasta esa fecha solo se había conseguido aislar el ácido jaconécico.

Bradbury y Masamune indican que ambos ácidos se forman en proporciones casi iguales lo que hace ciertamente improbable que otros autores no le hubiesen detectado.

En nuestra experiencia con Allo-jacobina hemos encontrado que los ácidos análogos al Jaconécico e Isojaconécico se forman en la proporción (4:1) (ver Parte Experimental), lo que contribuiría a explicar que los autores que estuviesen trabajando con Allo-jacobina no hubiesen detectado lo que puede considerarse una simple impureza, eliminable en un proceso de cristalización fraccionada.

Por otro lado, como el ácido Jaconécico aislado de Jacobina y el ácido epimérico aislado de Allo-jacobina poseen -

constantes físicas bastante parecidas, el equívoco se ha mantenido fácilmente. Como acabamos de decir, los autores que posiblemente han aislado Allo-jacobina no han detectado la formación del ácido epimérico con el Isojaconéico - que es el que arroja mayores diferencias en sus constan--tes físicas con el ácido Isojaconécico auténtico.

PARTE IICOMPONENTES BASICOS MAS POLARES DEL SENEIO ERUCIFOLIUS

Como ya hemos dicho, en la cromatografía en columna del crudo de alcaloides del Senecio erucifolius, se obtuvieron, por un lado, los componentes menos polares que ya hemos -- descrito y por otro, los componentes más polares que denominamos ETA-II.

La cromatografía en capa fina sobre alúmina pone de manifiesto que esta fracción contiene tres sustancias. Por lo tanto, se intentó su separación en una columna de alúmina, desactivada al grado III y eluyendo sucesivamente con cloroformo, cloroformo-metanol (3%) y cloroformo-metanol (10%).

Las fracciones de esta cromatografía se agruparon de -- acuerdo con los valores de los R_F que presentan estas sustancias en una cromatografía sobre papel Wathman n° 1, obteniéndose así las siguientes fracciones:

ALE - II F - 1; R_F 0,50 - 0,54

ALE - II F - 6 ; R_F 0,40

ALE - II F - 18 ; R_F 0,25

La sustancia ALE-II-F-1, resultó idéntica al producto SIG descrito anteriormente. Esto es, se trata de una mezcla sin resolver de los tres alcaloides descritos anteriormente, según se puso de manifiesto en un estudio comparativo mediante c.c.f. de esta sustancia y el producto SIG.

Los productos ALE-II-F-6 y ALE-II-F-18 por el contrario parecen ser sustancias nuevas cuya caracterización describimos seguidamente.

ALCALOIDE ALE-II-F-6: OTOSENINA

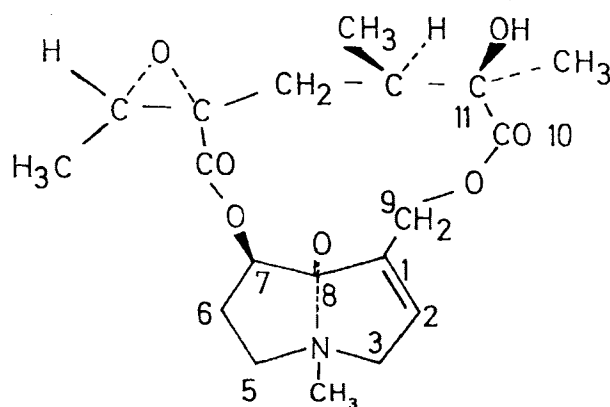
Este alcaloide se recrystalizó de acetona obteniéndose unos cristales de p.f. 232-234°C y cuyas constantes físicas junto con los valores de otros alcaloides previamente descritos² resumimos en el siguiente cuadro:

<u>Alcaloide</u>	<u>p.f. (°C)</u>	<u>(α)_D (C\overline{C}l₃)</u>	<u>R_F (papel)</u>
ALE-II-F-6	232-234°	+ 15°	0,40
Otosenina ²	221	+ 20,8	0,34
Otosenina ⁴	232-233°	+ 15° (\overline{C} , 1.02)	0,39
Otosenina ²³	221-222°	+ 20,8	0,34
Tomentosina ²⁴	232°	+ 14°	0,40
Otosenina ²⁵	218-219°	+ 16,5°	--

La Otosenina original fué aislada por Mensikov ²³ y colaboradores del Senecio othonnae y sus constantes son las que se reproducen en el trabajo de Culvenor ².

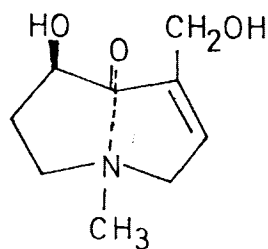
Posteriormente, otra sustancia, considerada idéntica a Otosenina ⁴, pero cuyas constantes difieren ligeramente de las de ésta, ha sido aislada por Santavy y colaboradores del Senecio erraticus Bertol, subespecie barbaraeifolius. Por último, Adams y colaboradores ²⁴, aislaron una sustancia, cuyas constantes coinciden con la Otosenina de Santavy ⁴, pero difieren de la original de Mensikov ²³. A ésta última aislada del Senecio tomentosus se le denominó Tomentosina. Posteriormente la Tomentosina se ha considerado idéntica a Otosenina sin contar con las diferencias en constantes entre la Otosenina de Mensikov y la de Santavy.

La estructura asignada a Otosenina ²¹ es la siguiente (52):



(52)

Este alcaloide se caracteriza por poseer una nueva base n cica, la Otonecina (53), cuya estructura se estableció mediante un estudio ²¹, de rayos X, con el alcaloide Retusamina.



(53)

Otonecina está claramente relacionada con la retronecina pero con la característica de poseer un grupo metilo sobre el átomo de nitrógeno y un grupo -CO- que presenta las típicas interacciones:



a través del anillo que han sido ampliamente discutidas - por Leonard y colaboradores²².

Esta interacción se pone de manifiesto en el espectro infrarrojo por la aparición de una banda de carbonilo a frecuencia muy baja ($\approx 1550 \text{ cm}^{-1}$).

Los datos espectrales de Otosenina²⁰, 23, 24, indicaban la presencia de esta agrupación y la base néctica efectivamente resultaba ser idéntica a Otonecina (53).

Los datos de r.m.n.²⁵, prácticamente resultaban idénticos a los publicados para Jacobina¹⁹, por lo que Wunderlich²¹ asignó a Otosenina la estructura indicada (52) basándose - en estas deducciones. En el trabajo de Wunderlich²¹ no se especifica la estereoquímica del anillo oxiránico pero ésta

ha sido asignada tal como se indica en (52) por Culvenor², posiblemente por analogía con la del alcaloide Jacobina.

De la Tabla precedente cabe decir que nuestro alcaloii de ALE-II-F-6 coincide plenamente en sus constantes físicas con la Otosenina de Santavy⁴ o la Tomentosina de Adams²⁴, pero no así con la Otosenina original de Mensikov²³, que es la que Culvenor cita como Otosenina auténtica² y que posiblemente también ha sido aislada con posterioridad²⁵ por Cava y colaboradores de Cacalia floridana (Compuestas).

El espectro infrarrojo (ver Fig. 10), de ALE-II-F-6, - obtenido en Nujol muestra en efecto la característica banda de -C=O con interacción de nitrógeno a 1570 cm^{-1} y las dos bandas de ester-carbonilo a 1740 y 1750 cm^{-1} .

Tenemos pues claros indicios de la presencia del anillo de otonecina y también, por la similitud de absorción de las dos bandas de carbonilo, indicios de que el doble enlace de la cadena dicarboxilica se encuentra formando parte de un anillo oxiránico como requiere la fórmula de Otosenina (52).

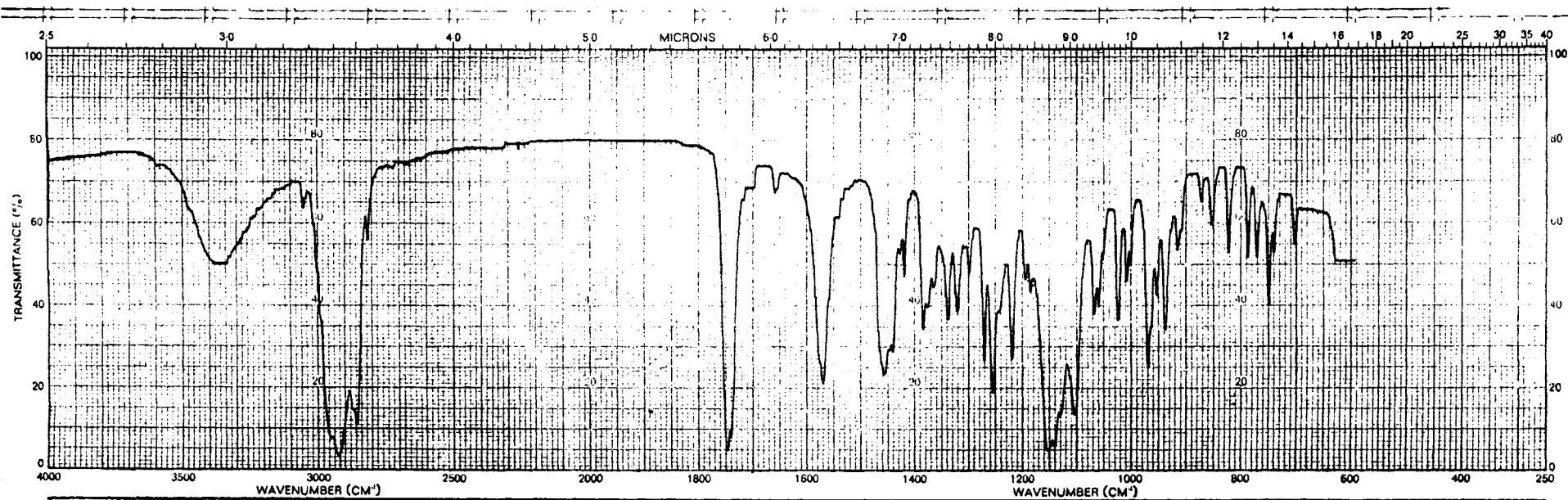


FIG. 10

Se observan asimismo bandas a 3040 y 1250 cm^{-1} que se -
podían asignar específicamente a la presencia del anillo -
oxiránico, aunque ello resulta arriesgado teniendo en cuenta
la presencia de enlaces olefinicos y funciones ester en
la misma molécula.

Otras bandas significativas aparecen a 1270, 1220 (C-O,
de ester), 1100 y 1150 cm^{-1} (C-O de alcohol), y 1660 cm^{-1}
(olefina).

El espectro de r.m.n. obtenido con nuestro alcaloide
(Fig. 11), coincide asimismo bastante bien con el publicado²⁵
para Otosenina según se aprecia en la siguiente Tabla:

	<u>N-CH₃</u>	<u>C- 2</u>	<u>C - 9</u>	<u>C-19</u>	<u>C-18</u>	<u>C-16</u>	<u>C-17</u>
Otosenina ²⁵	7.95	3.84	4.50 5.64	8.64	8.86	7.02	8.76
ALE-II-F-6	7.88	3.85	4.5 5.63	8.67	8.87	7.0	8.76

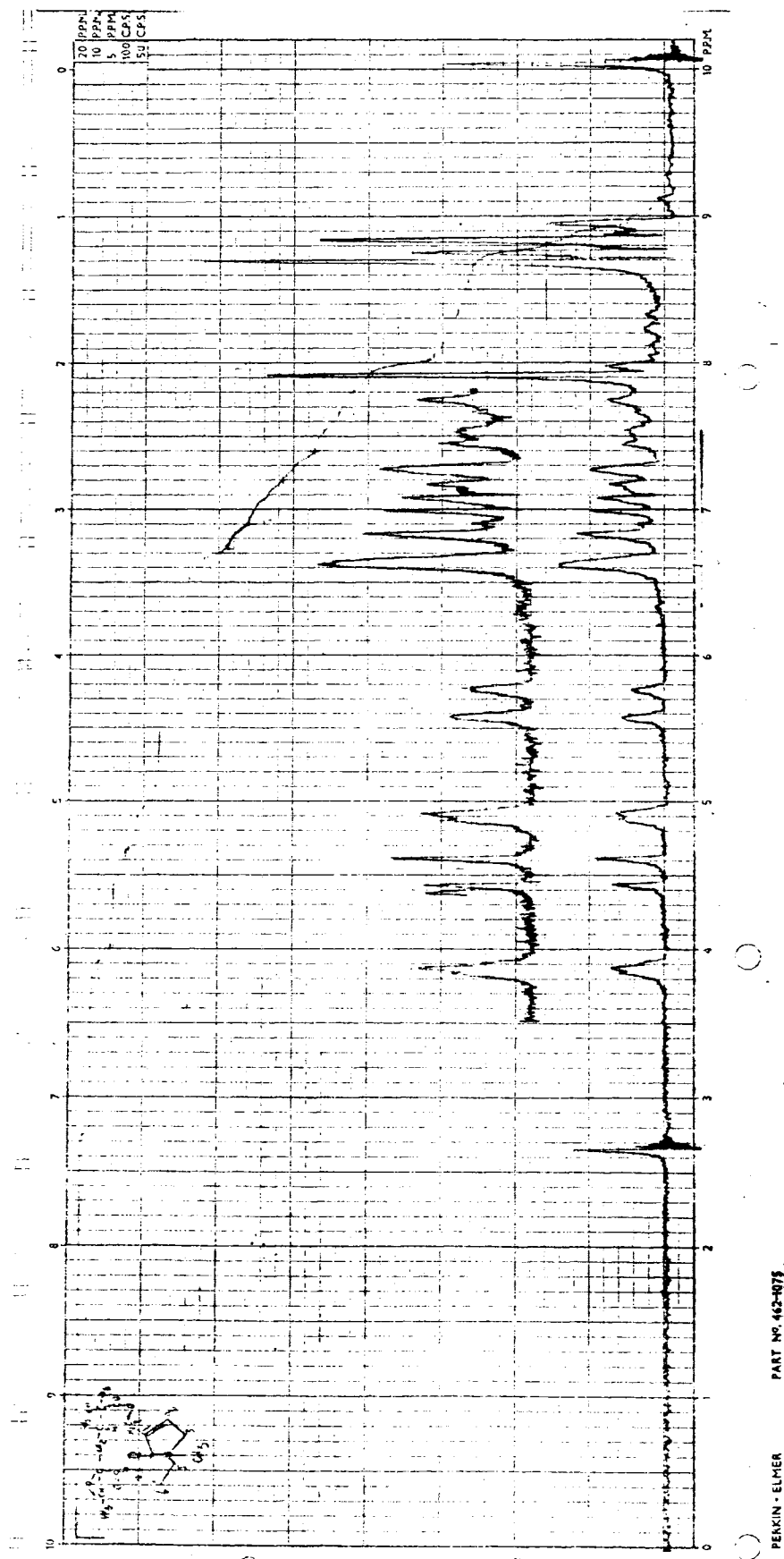
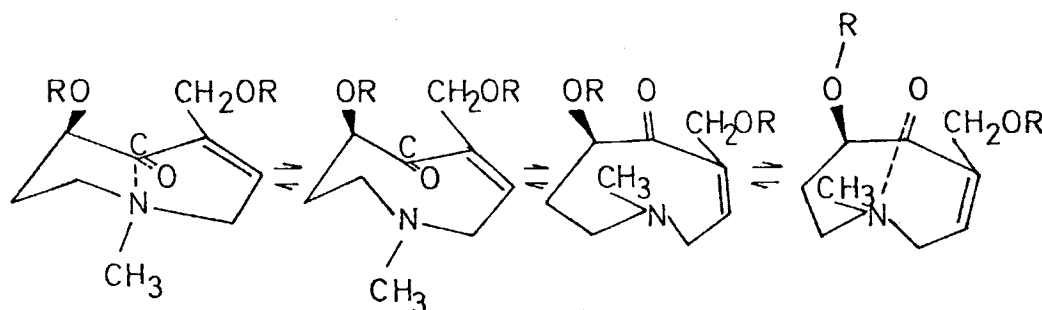


FIG. 11

Los dos espectros son prácticamente idénticos y la úni-
ca diferencia, que puede ser significativa si no se trata
de un error de imprenta, se observa en la posición de la --
señal del N-metilo.

Las peculiares características del anillo de Otonecina
hace que se deba de tener en cuenta una isomeria del tipo -
indicado a continuación²:

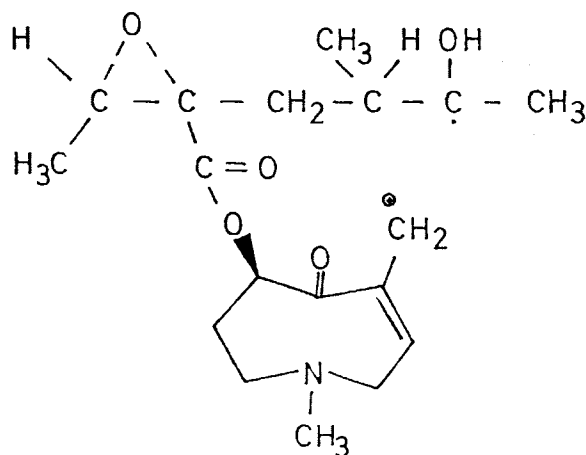


Si el diester cíclico de Otonecina puede existir en -
estas dos formas indudablemente podía dar lugar a dos des-
plazamientos químicos diferentes para el N-CH_3 , según pare-
ce existir en la Tabla reseñada más arriba.

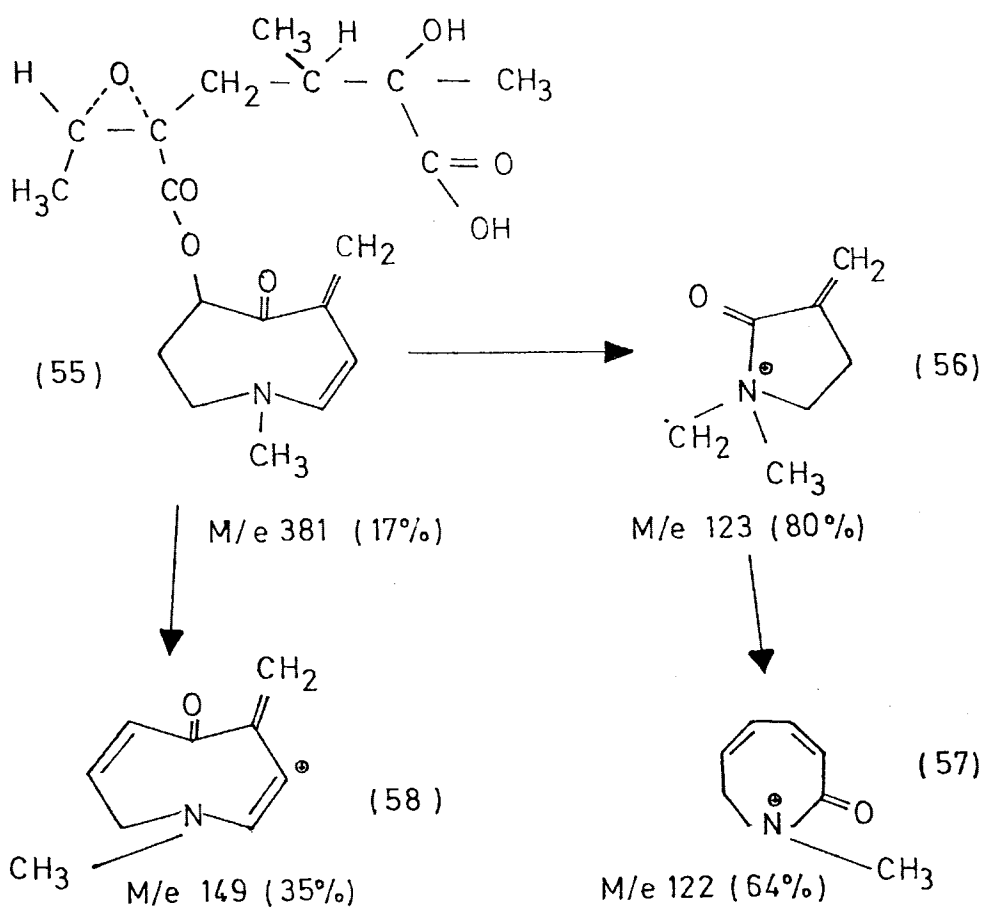
El espectro de masas de ALE-II-F-6 está asimismo en consonancia con la estructura asignada a Otosenina, aunque he-
mos de tener en cuenta, que en el caso de estos alcaloides
es imposible distinguir mediante esta técnica ligeras varia-
ciones estructurales que no afecten profundamente el esque-
leto de la sustancia.

Se aprecia el ión molecular M^+ a m/e 381 (7 %) correspon-
diente a la fórmula molecular $C_{19}H_{27}O_7N$. Otros fragmentos -
importantes en la región de masas altas son: m/e 366, corres-
pondiente a la pérdida de metilo; m/e 364, correspondiente a
la pérdida de -OH y m/e 337 que responde a la pérdida de CO_2 .

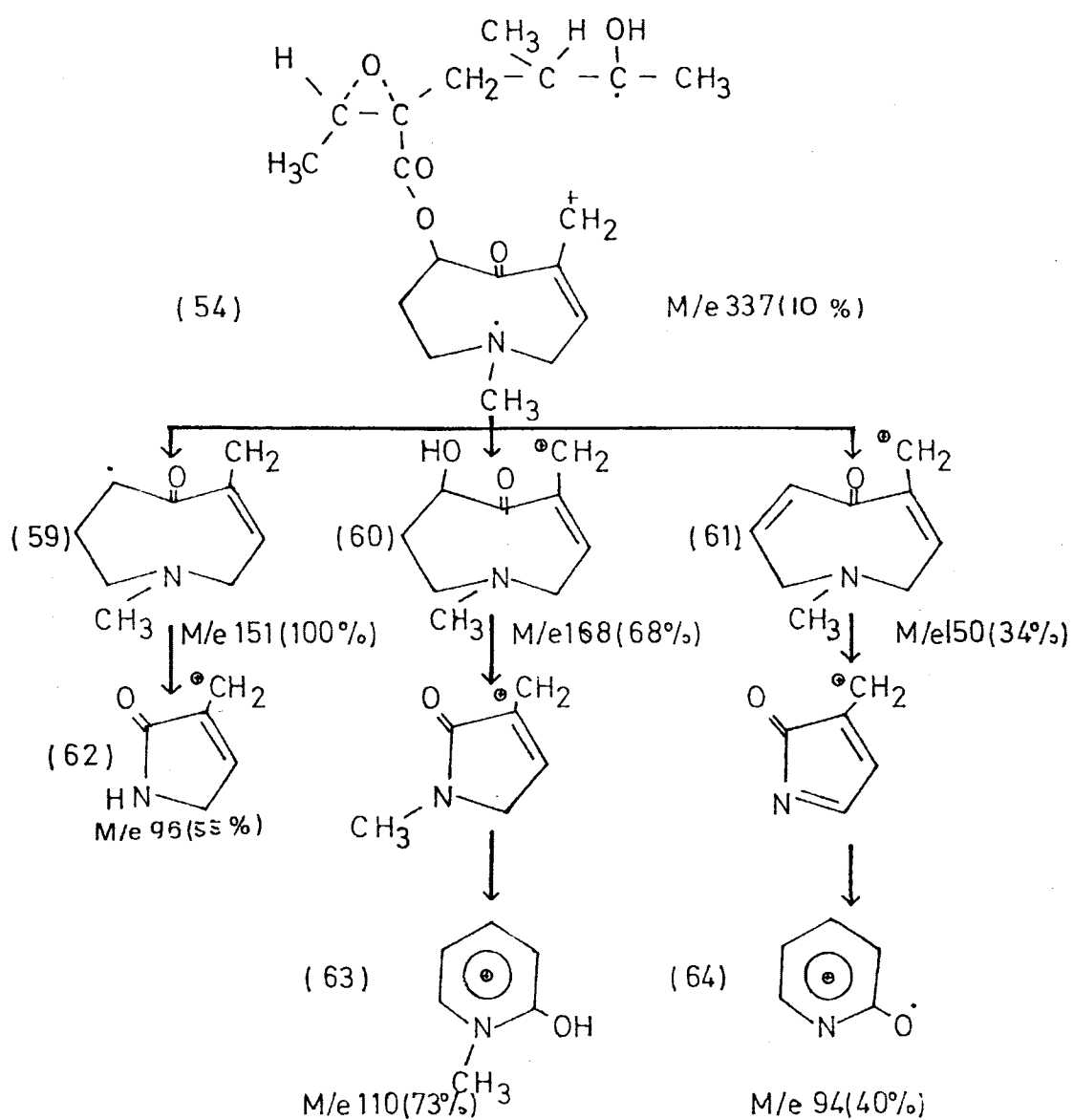
Como en casos anteriores este último fragmento se puede
representar como sigue: (54)



Las características diferentes de la base necica se ponen de manifiesto en la aparición de fragmentos distintos, a los encontrados en casos anteriores, en la región de valores de masa intermedios, así ocurre con fragmentos de masa m/e 149, 123 y 122 cuya formación se puede explicar como sigue:



Lo mismo sucede con otros fragmentos: m/e 168, 151, 150, 110, 96 y 94 que derivan posiblemente del ión $M^+ - 44$, de acuerdo con el siguiente esquema:



El estudio de los datos aquí reseñados plantea varios problemas. Parece claro, en un principio, que la Otosenina original aislada por Mensikov²³ del *Senecio othonnae* y cuyas constantes se consideran características² de la Otosenina "sensu strictu" no corresponde a posteriores Otoseninas^{4,25}, ni con las de Tomentosina²⁴.

Ciertamente las constantes determinadas por nosotros para el alcaloide ALE-II-F-6 coinciden bastante bien con estas otras Otoseninas, pero difieren de la Otosenina de Mensikov.

La estructura asignada a Otosenina por Wunderlich²¹ no ha sido el resultado de un estudio directo realizado con el alcaloide, sino que las deducciones efectuadas con el alcaloide Retusamina y que permiten asignar la estructura (53) a la base néctica, Otonecina, fueron extendidas por este autor a otros alcaloides, de los que se sabía poseían esta base néctica y entre ellos a la Otosenina.

Ahora bien para asignar una estructura a Otosenina ha habido que combinar este conocimiento de la estructura de la base néctica Otonecina, con otros conocimientos acerca de la

estructura del ácido esterificando a esta base. Los datos relativos a la estructura del ácido son exclusivamente espectroscópicos, ya que, en nuestro conocimiento, no se ha llevado a cabo una degradación e identificación positiva^(*) del ácido jaconécico e isojaconécico que cabría esperar si la estructura asignada a Otosenina es correcta.

Nosotros hemos puesto de manifiesto, en el caso del alcaloide Allojacobina, que datos de infrarrojos y resonancia magnética nuclear exclusivamente pueden inducir a considerar

(*) A este respecto cabe señalar que en el caso de Tomentosina (uno de los alcaloides sospechosos de no ser idénticos a Otosenina) se comparó el ácido Jaconécico aislado (no se detectó el ácido Isojaconécico) con el mismo ácido, aislado por Manske¹⁸ de una muestra de Jacobina que posiblemente no es tal sino Allojacobina, resultando ser idénticas.

idénticas dos sustancias que presentan una modificación estructural como la que ocurre aquí. Se requiere una comparación directa, como en el caso de Jacobina y Allojacobina de los espectros infrarrojos para poner de manifiesto algunas diferencias.

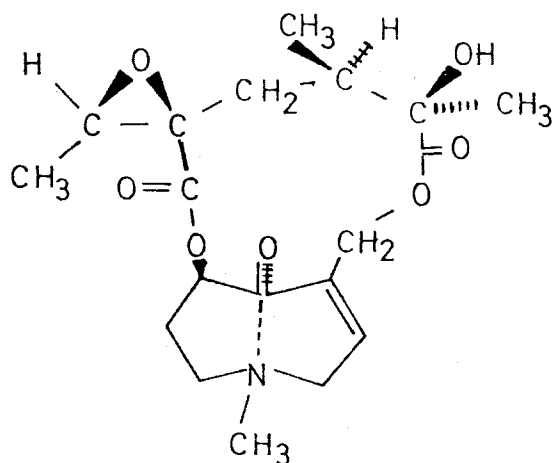
Por otro lado, en nuestra experiencia y en el caso concreto de estos alcaloides, hay que conceder un gran valor a algunas constantes físicas, tales como el poder rotatorio o el valor del R_F en cromatografía de papel y ya hemos visto que hay marcadas diferencias entre la Otosenina original y las otras sustancias consideradas idénticas.

Por consiguiente, nosotros postulamos que la estructura asignada a Otosenina (53) lo ha sido sobre bases no muy rigurosas.

La estructura del diácido, se ha basado fundamentalmente en la extraordinaria semejanza de los espectros r.m.n. de Jacobina y Otosenina en lo que respecta a las señales debidas a estos ácidos, pero nosotros hemos puesto de manifiesto que un cambio de configuración del oxígeno oxiránico no se detecu

ta en el espectro de r.m.n. y con ello parece que invalidamos parte de los argumentos que permitieron asignarle estructura.

Careciendo de una demostración rigurosa que exigiría el aislamiento e identificación de los posibles ácidos jaconecico e isojaconécico, preparados con la molécula de Otosenina, nosotros aducimos el posible origen biogenético común de los alcaloides E-3A (Allojacobina) y ALE-II-F-6, posiblemente a través del N-óxido²⁵, para asignar al anillo oxiránico la estructura que se indica a continuación: (65)



(65)

Aún queda por saber si existe realmente una diferencia en el desplazamiento químico del N-CH_3 de ALE-II-F-6 y la Otosenina aislada por Cava²⁵, pues en tal caso había que considerar seriamente la posibilidad de una isomería "exo" y "endo-buckled", del anillo de Otonecina en estos alcaloides.

ALCALOIDE ALE-II-F-18: JACOLINA

Para tratar de identificar esta sustancia, se determinan en primer lugar sus constantes físicas.

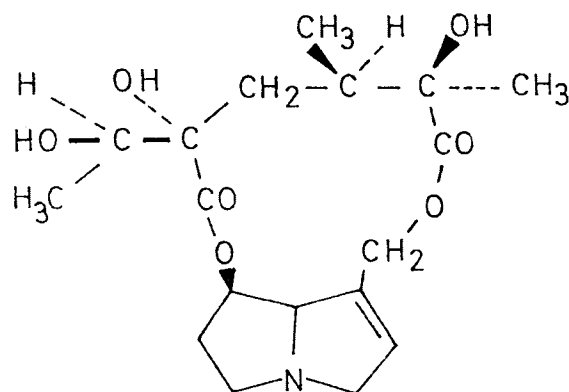
Se recrystalizó el producto en acetona. Los cristales blancos obtenidos funden a $213 - 215^{\circ}\text{C}$. El poder rotatorio de este compuesto se determinó en cloroformo siendo la concentración 1,035 gr/l y es $(\alpha)_D = +48^{\circ}$.

Por cromatografía en papel Wathman n°1, eluyendo con butanol-ácido acético al 5%, se determinó su R_F siendo $R_F = 0,25$.

Comparando estos datos con las constantes que nos da la literatura² para el alcaloide Jacolina; $PF = 221^{\circ}\text{C}$. $(\alpha)_D = +48^{\circ}(\text{CHCl}_3)$ y R_F papel = 0,23 ,vemos que son muy semejantes.

Es lógico pensar,por tanto,que nuestro alcaloide ALE-II-F-18 se trata de Jacolina y luego queda así confirmado por los datos espectroscópicos.

La estructura de Jacolina la podemos representar por:



(65)

Efectivamente el espectro de infrarrojo de la sustancia ALE-II-F-18 realizado en Nujol muestra bandas a 3.530, 3.520 y 3.350 cm^{-1} que nos indican la presencia del grupo -OH (Fig. 12).

En la región de los agrupamientos carbonílicos nos encontramos con bandas a 1.740 y 1.720 cm^{-1} , asignadas a dos grupos ésteres.

Bandas a 1.190, 1.150, 1.110 y 1.100 cm^{-1} que son debidas a las tensiones de enlaces C-O.

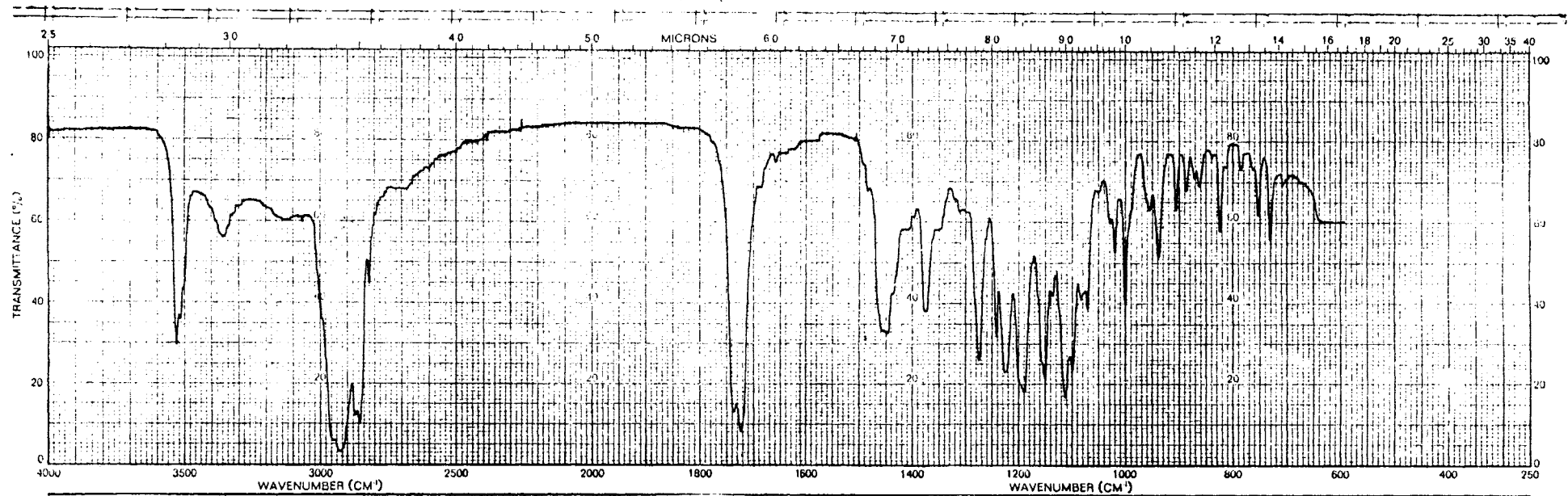


FIG. 12

Este espectro realizado en Nujol coincide exactamente con el espectro publicado para Jacolina¹⁷.

El espectro r.m.n. coincide asimismo con la estructura (66) (Fig. 13), asignada a este alcaloide.

La zona de los metilos se asemeja a la observada en anteriores espectros: Un doblete a $\tau = 8,85$ asignable a C-18 ($J = 6\text{Hz}$), un doblete a $\tau = 8,76$ atribuido a C-17 ($J = 4\text{Hz}$) y un singlete a $\tau = 8,72$ debido a C-19.

A campo más bajo aparece un doblete a $\tau = 6$, que integra por un protón y con una constante de acoplamiento grande ($J = 11\text{Hz}$). A $\tau = 4,5$ aparece otro doblete, 1H, con la misma constante de acoplamiento ($J = 11\text{Hz}$). Ambas señales se atribuyen al agrupamiento $\text{CH}_2\text{-O-CO}$. Estos protones que soporta C-9 forman un sistema AB, obteniéndose un esquema típico de estos alcaloides.

A $\tau = 4,9$, aparece una señal ancha que, como en toda esta serie de alcaloides, se asigna al grupo CH-O-CO .

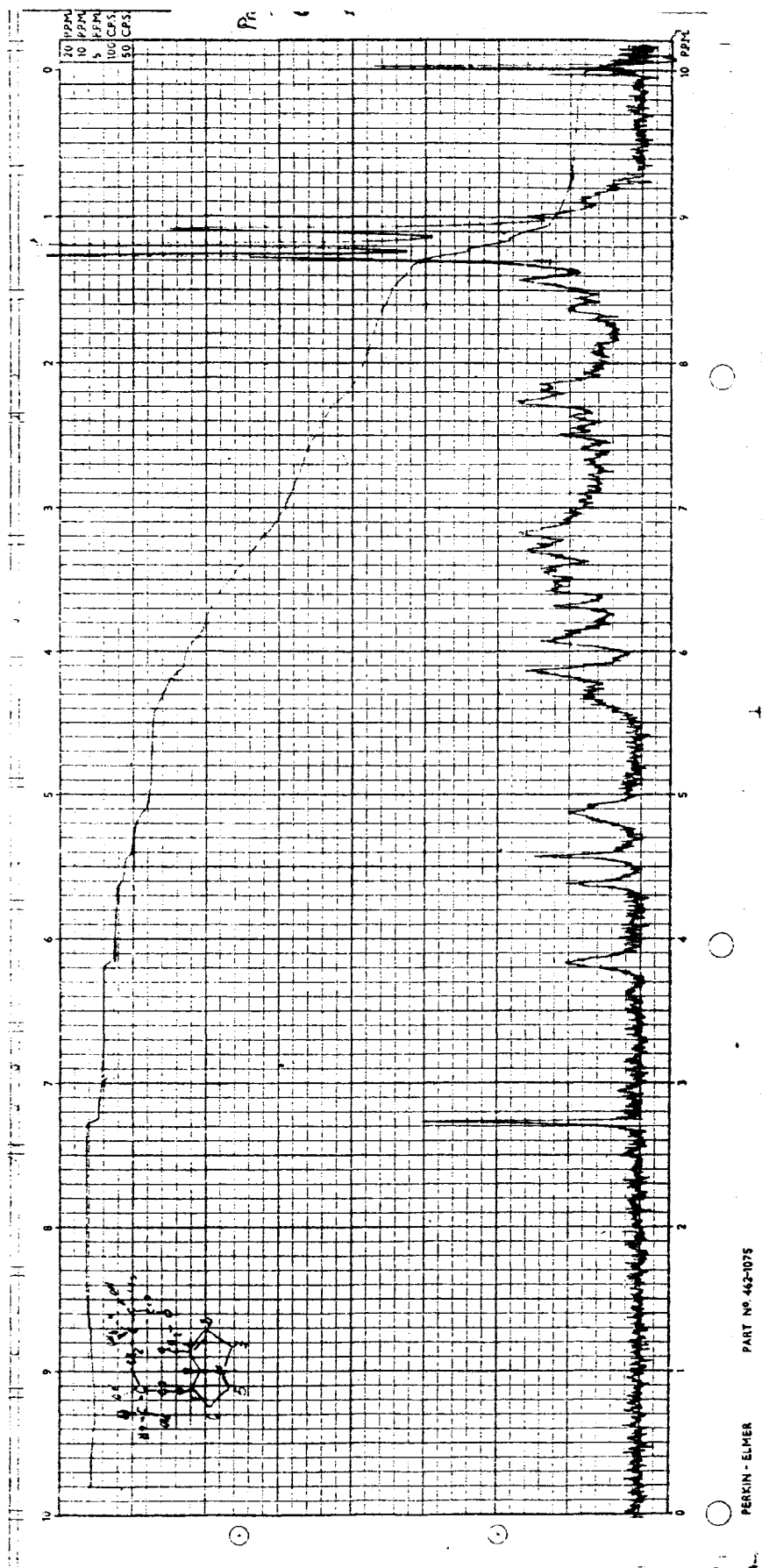


FIG. 13

Una señal ancha, $W_{1/2}=6\text{Hz}$, se encuentra a $\tau=3,85$, integrada por un protón y es debida al protón olefínico del núcleo de pirrolizidina.

El espectro de masas de la sustancia ALE-II-F-18, nos confirma que se trata del alcaloide denominado Jacolina - (65).

El pico molecular $M^+=369(3\%)$, se corresponde con una fórmula empírica $C_{18}H_{27}O_7N$.

La fragmentación de esta sustancia es del tipo ya descrito para Senecionina.

Los fragmentos más importantes son:

m/e	93 (86%) (26) ;	94 (50%) (23) ;	95 (53%) (30)
	119 (96%) (25) ;	120 (100%) (22) ;	121 (49%) (29)
	136 (30%) (27) ;		138 (33%) (31)

Estos fragmentos son idénticos a los obtenidos para Senecionina y se corresponden con la base pirrolizidínica que es común para ambos alcaloides.

Nos encontramos, además, los fragmentos m/e 207 (11%); 236 (11%) y 325 (8%). Este último ión es M^+-44 , es decir, la pérdida de CO_2 en el ión molecular, y como ya hemos observado aparece en todos estos compuestos.

Así pues en el caso de Jacolina, la coincidencia de -- las constantes físicas, de los datos espectroscópicos pu-- blicados para este alcaloide y los de nuestra sustancia -- ALE-II-F-18, es tal que hemos de concluir que se trata de este alcaloide.

Hubiese sido deseable llevar a cabo una comparación directa con Jacolina auténtica pero no nos ha sido posible.

En principio cabe suponer que las plantas de Senecio - erucifolius transformen Jacobina en Jacolina, mientras que la Allojacobina presente queda como tal o evoluciona hacia Otosenina conforme hemos apuntado antes.

PARTE III

TRANSFORMACIONES QUIMICAS DE ESTOS ALCALOIDES

A lo largo de nuestro trabajo sobre los alcaloides del *Senecio erucifolius* se ha puesto de manifiesto la utilidad de métodos químicos que permitan relacionar estas sustancias entre sí, tal como hemos visto al relacionar Allojacobina con Senecionina, pero más aún hemos encontrado una carencia de métodos que consigan esta finalidad, pues podemos decir que las transformaciones químicas aplicadas a estos alcaloides se reducen a la hidrólisis, ácida o alcalina, y la hidrogenólisis.

En esta Parte III nosotros describimos los ensayos que hemos realizado con el fin de aportar alguna solución al problema enunciado.

ACETILACION

La publicación reciente de trabajos en que se comunicaba el aislamiento de alcaloides del tipo pirrolizidina que presentaba uno o dos grupos acetilo²⁵ nos indujo a considerar el problema de preparar estos derivados acetilados y - de ser posible, conseguir acetilar selectivamente un grupo hidroxilo secundario o un terciario.

Los primeros ensayos los realizamos con muestras del - alcaloide ALE-II-F-18 (Jacolina) (66) por poseer en su molécula un grupo hidroxilo secundario y dos terciarios; además se daba la circunstancia de que, en el trabajo reseñado²⁵ de Cava y Colaboradores, se habían aislado derivados acetilados del alcaloide Onetina que se corresponde con Jacolina, aunque la base néctica de Onetina es Otonecina y no Retronecina.

Los primeros ensayos de acetilación se efectuaron utilizando únicamente anhídrido acético y sin añadir el catalizador básico sino permitiendo que el mismo alcaloide actuara como base.

Cromatografía en capa fina sobre sílice del producto de reacción indicaba claramente qué parte del producto se había transformado. La separación del posible derivado acetilado se efectuó sobre placas preparativas.

Efectivamente el producto aislado debe ser el acetato (sobre el alcohol secundario) de ALE-II-F-18, pues el espectro r.m.n. de esta nueva sustancia nos muestra junto a las señales correspondientes a la sustancia de partida:

Dobletes de metilo a τ 8,83 y 8,75; singlete a τ 8,74; y las señales correspondientes a los protones del anillo de Retronecina prácticamente en las mismas posiciones en que aparecían en el caso de Jacolina, se aprecia un singlete - de tres protones a τ 8.08 y un cuartete a τ 5.15 ($J=6\text{Hz}$), que corresponde precisamente al metilo del grupo $-\text{CO}-\text{CH}_3$ - introducido y al proton geminal del hidroxilo secundario - que hemos acetilado.

Como era de esperar, pues, no existe problema alguno al tratar de acetilar el grupo $-\text{OH}$ secundario de la cadena macrocíclica y los $-\text{OH}$ terciarios no quedan afectados.

Otro aspecto que intentamos resolver se refiere a la posibilidad de encontrar un procedimiento no destructivo que permita acetilar el grupo hidroxilo terciario que -- casi de una manera constante se presenta en estos alcaloides.

La utilidad de un procedimiento tal sería doble; por un lado, nos proporcionaría un método fácil de poner de manifiesto la presencia de dicho grupo hidroxilo en cualquier nuevo alcaloide, por otro lado, pretendíamos ensayar si mezclas de alcaloides así acetilados podían ser resueltas en componentes individuales más fácilmente que los alcaloides originales.

Para ensayar el método apropiado utilizamos el alcaloide Platifilina (66), del que disponíamos de cantidades apreciables al haber sido aislado en este laboratorio a partir del *S. Tournefortii*²⁶.

Los primeros ensayos de acetilación de este alcaloide, efectuados con anhídrido acético, primero, y anhídrido acético-piridina, resultaron infructuosos recuperándose la -- sustancia original.

Si se intenta elevar la temperatura para forzar la reacción se provoca la destrucción del alcaloide.

Intentamos pues la acetilación con catálisis ácida²⁷, utilizando anhídrido acético y unas gotas de ácido trifluoro-acético, a temperatura ambiente. En estas condiciones -- tiene lugar una acetilación parcial de Platifilina. El producto original y la sustancia acetilada se separaron en -- placa fina preparativa.

El derivado acetilado de Platifilina presenta un $R_F=0.63$ mientras que Platifilina muestra un $R_F=0.57$ (ambas sobre papel). El espectro r.m.n. del derivado acetilado coincide -- prácticamente con el que presenta Platifilina²⁶, excepto por un singlete que integra por tres protones a τ 7.9.

Una vez que conocíamos un procedimiento que permitía -- acetilar el hidroxilo terciario de estos alcaloides sin cau

sar degradación alguna, decidimos ensayar este método a fin de valorar las ventajas que podía ofrecer en la separación de una mezcla compleja y difícil, tal como la que nosotros habíamos aislado en el curso de este trabajo y que denominamos SIG.

Como se recordará la cromatografía de absorción era incapaz de resolver esta mezcla en sus tres componentes E-1A (Senecionina), E-2A (Senecefilina) y E-3A (Allojacobina) y hubimos de recurrir a la cromatografía de reparto para conseguir resolver, al menos parcialmente, esta mezcla. Entre otros, este procedimiento cromatográfico tiene el inconveniente de admitir una carga muy pequeña de sustancias a separar por lo que para conseguir las cantidades necesarias de alcaloides puros es necesario llevar a cabo repetidas veces el mismo procedimiento. De ahí, nuestro interés en encon--trar un método que simplificara esta separación.

Cuando se efectúa la acetilación de SIG en las mismas condiciones anteriores se obtiene una mezcla de dos sustancias que se pueden separar en placa preparativa de alúmina.

El espectro r.m.n. del componente de menor R_F (2PP) - indica que esta sustancia está formada esencialmente por el acetato de E-3A o Allojacobina pero una señal a τ 8.3 y otra señal casi solapada a la del grupo acetilo de -- Allojacobina, indican que la separación cromatográfica no ha sido muy buena^(*) y hay algo de acetato de Senecifilina impurificando al anterior.

El espectro r.m.n. del otro componente de esta mezcla de acetilación (3PP) muestra señales que hacen suponer -- que está formado esencialmente por el acetato de Senecifilina y el acetato de Senecionina. Así, pues, la mezcla de tres alcaloides no ha quedado totalmente resuelta, pero - este método puede ofrecer una vía para la purificación de, estas sustancias, sobre todo teniendo en cuenta la inversión de R_F que ha tenido lugar en los productos acetilados con relación a los alcaloides de partida y en cromatografía de partición.

(*) El problema de separación en placa preparativa de alúmina se plantea al buscar un revelador no destructivo. Los vapores de I_2 utilizados no permiten visualizar zonas de límites claramente definidos.

HIDROGENACION

Bastantes alcaloides de este grupo podrían ser relacionados entre sí, en el supuesto de disponer de un método -- adecuado de hidrogenación que permitiese saturar los enlaces olefínicos sin causar al mismo tiempo hidrogenolisis - del enlace de ester alílico, con la consiguiente apertura de anillo.

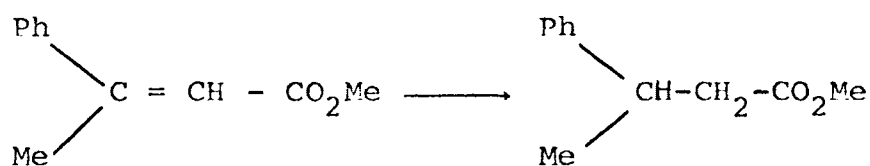
Los métodos catalíticos habituales (catálisis heterogénea) no permiten efectuar la hidrogenación sin que tenga - lugar la hidrogenolisis².

Nosotros hemos ensayado algunos catalizadores en fase homogénea tales como el cloruro de rodio, trifenilfosfina ($\text{Rh Cl (P Ph}_3)_3$) que se ha aplicado con éxito a la hidrogenación de dobles y triples enlaces²⁸.

Este método lo aplicamos a la hidrogenación de Senecifilina ya que, de resultar selectiva de dobles enlaces disustituídos esta catálisis, se obtendría Senecionina o su correspondiente epímero (o mezclas de ambos).

La reacción se efectuó^{29,30} a 6 atmósferas de presión, 60° y 8 horas. No conseguimos aislar sustancia alguna de -- R_F análogo o idéntico a Senecionina por lo que suponemos - que, en estas condiciones tuvo lugar la hidrogenolisis y - subsiguiente hidrolisis de Senecifilina.

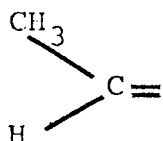
Otro catalizador de fase homogénea ensayado es la bis-(piridina)-dimetilformamida-diclororodio-borohidruro. Este catalizador se había empleado para hidrogenar sustancias - del tipo:



obteniéndose buenos resultados³¹.

Se prepara "in situ" mezclando Cl₃Rh, piridina, dimetilformamida y borohidruro sódico. La reacción se efectúa en dimetilformamida como disolvente. La hidrogenación se lleva a cabo a presión y temperaturas normales durante 24 horas, con el alcaloide Senecifilina.

Dado que la separación cromatográfica entre Senecifilina y Senecionina es muy pobre decidimos comprobar el curso de la reacción por medio del espectro de r.m.n. La aparición de un doblete, con acoplamiento virtual a τ 9.1 en el producto de reacción es un indicio seguro de que en parte - ha sido saturado el doble enlace exocíclico de Senecifilina. Pero, al mismo tiempo la persistencia de la señal a τ 4.8, asignada al doble enlace exocíclico de Senecifilina indica que el rendimiento de esta reacción ha sido bajo (comparando la integral de esta señal con la correspondiente al supuesto grupo

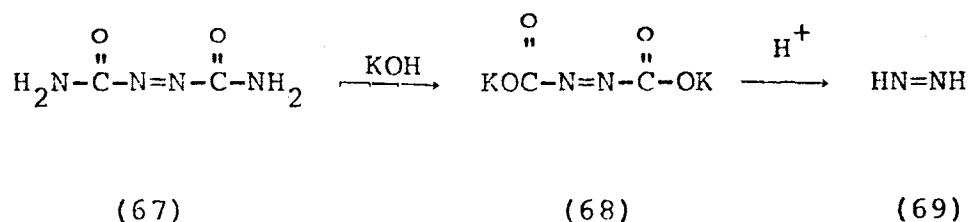


originado por su reducción).

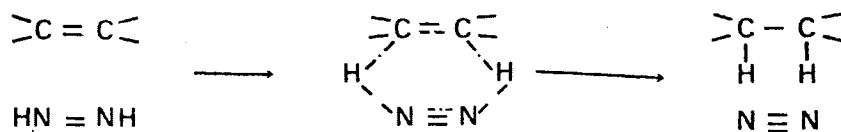
Por último cabe reseñar nuestros intentos de reducción con el reactivo diimida (NH=NH). Es bien conocido que este reactivo satura dobles enlaces simétricos³² $\text{C}=\text{C}$; $\text{C}\equiv\text{C}$ y $\text{N}=\text{N}$, mientras que deja inalterados aquellos dobles enlaces polarizados tales como $\text{C}=\text{N}$ y $\text{C}=\text{O}$.

Pensábamos que quizás este reactivo fuese capaz de reducir selectivamente el doble enlace exocíclico de Senecifilina, mientras que el doble enlace conjugado, por estar ciertamente polarizado, quedaría intacto.

La diimida se genera "in situ" por hidrólisis de la azidocarbonamida (67), formándose azidocarboxilato potásico (68) que en medio ácido débil genera la diimida ³³ (69).



La adición de hidrógeno al compuesto insaturado generalmente es cis siendo su mecanismo ³⁴:



La reducción se llevó a cabo en metanol, con ácido acético y en atmósfera de nitrógeno³⁵. Con estas condiciones se intentaba evitar la hidrogenolisis.

El producto obtenido, A, tanto por cromatografía en papel Wathman núm. 1, como por su poder rotatorio $(\alpha)_{OD} = -130^\circ$ era Senecifilina, es decir, no ha ocurrido la reducción.

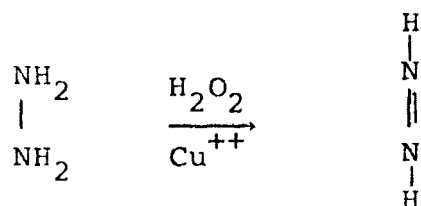
Esta misma reacción se ensayó de nuevo otras dos veces.

En la primera de ellas se cambió el disolvente, metanol, por agua. Se pensaba que no se había formado la diimida en la reacción anterior porque el azidocarboxilato potásico -- (68) se disolvía mal en metanol. Sin embargo, a pesar de todo, la segunda reducción solo permitió aislar el producto de partida.

Se intentó por tercera vez forzando aun más las condiciones, se duplica la cantidad de reactivo con respecto al alcaloide y se mantiene a reflujo en un baño de aceite, pero el resultado también fué negativo recuperándose en todos los - ensayos el producto de partida, la Senecifilina (34).

Abandonado este método se ensaya la reducción de Senecifilina con hidrazina³⁶.

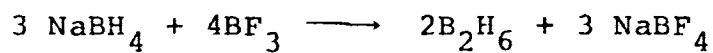
En este caso³⁷ se utiliza hidrazina disuelta en etanol, en presencia de iones Cu^{2+} y H_2O_2 . Es un nuevo método de obtención de diimida ya que el ión Cu^{++} cataliza la oxidación de hidrazina con H_2O_2 .



La reducción fué de nuevo negativa, quedando así demostrado que el reactivo diimida no reduce este tipo de olefinas.

Una vía de reducción diferente a las anteriores suponimos que podría ofrecerla el uso de diborano. Las olefinas reaccionan con diborano utilizando los tres enlaces H-B, formando trialquilboranos que sufren protonólisis con el ácido acético, siendo este un método para hidrogenar dobles enlaces³⁸.

El diborano se genera de acuerdo con la reacción:



Es decir, se forma adicionando gota a gota una solución de borohidruro sódico en diglyme (dietilen glicol - dimetil eter) a una solución de trifluoruro de boro eterato en el mismo disolvente.

El diborano producido se arrastra al matraz de reacción con una corriente de nitrógeno³⁹.

El alcaloide se disolvió en tetrahidrofurano. Después de la reacción, al residuo se le añade ácido acético y se mantiene a reflujo. Por C.C.F. sobre sílice y por cromatografía sobre papel comprobamos que el producto obtenido es idéntico al compuesto de partida.

Ha dado, de nuevo, resultados negativos el intento de reducir Senecifilina.

TRANSFORMACION EPOXIDO → OLEFINA

Finalmente indicaremos un nuevo intento de conversi3n de ep3xido en olefina.

Nosotros ya hab3amos ensayado varios m3todos de reducci3n de ep3xido, obteniendo 3nicamente la olefina cuando se trataba el alcaloide con selenocianato pot3sico pero - los rendimientos de la reacci3n eran m3nimos.

En esta ocasi3n intentamos reducir el ep3xido de Otosenina (52) con un par Zn-Cu. Por este procedimiento se obtiene la olefina con un rendimiento del 60-80% ⁴⁰.

Preparamos ⁴¹ el par Zn-Cu con Zn en polvo y una soluci3n de SO_4Cu .

La reacci3n se realiza con una disoluci3n del alcaloide en etanol a la cual se a3ade el par Zn-Cu y se mantiene en ebullici3n viva durante 60 horas ⁴⁰.

El res3duo, comprobado por C.C.F. nos indica que coincide exactamente con el producto de partida.

EPOXIDACION

Un método adecuado de epoxidación del doble enlace - conjugado nos permitiría, en principio, relacionar sustancias tales como Senecionina y Jacobina, (o Allojacobina) y Senkirkina con Otosenina (o Isootosenina).

Nuestro material de ensayo fué el alcaloide Platifilina ya que se preveía el menor número posible de reacciones secundarias, al poseer esta sustancia un único doble enlace en su molécula.

Los intentos de epoxidar Platifilina han sido varios.

Resultados claramente negativos se obtuvieron con ácido peracético⁴² y ácido 3-cloro-perbenzoico. Considerando la aparente inercia del doble enlace de Platifilina a ser epoxidado ensayamos un reactivo típico de esteres $\alpha - \beta$ insaturados. Tal es el ácido peroxitrifluoroacético⁴³, - preparado a partir de anhídrido trifluoroacético y agua - oxigenada⁴⁴ del 90%.

La reacción se efectuó en un medio de PO_4HNa buffer que evitase en lo posible la destrucción del peróxido.

El producto de reacción se extrajo con cloruro de metileno y la fase acuosa se redujo con polvo de Zinc y ácido sulfúrico (5%) a fin de recuperar los N-óxidos que cabía esperar como resultado de la epoxidación.

Según el resultado de la c.c.f. ambos residuos estaban formados por dos componentes uno de los cuales correspondía al producto de partida. Se aísla, mediante placa preparativa, la nueva sustancia de la que se obtuvo un espectro de r.m.n.

De la información que suministró este espectro cabe afirmar que no ha tenido lugar la epoxidación deseada del doble enlace ya que a τ 4.15 existe un cuartete que integra por un protón y que corresponde precisamente al protón olefínico del doble enlace que tratamos de epoxidar.

ACETONIDOS

Un método apropiado de establecer la presencia de agrupaciones 1,2-diol en las moléculas de estos alcaloides mediante procedimientos no destructivos podría ser la preparación del correspondiente acetónido.

Para ensayar esta posibilidad utilizamos el alcaloide Jacolina (65) aislado por nosotros.

En primer lugar utilizamos sulfato de cobre anhidro - como agente deshidratante. Hirviendo a reflujo e alcaloide disuelto en acetona anhidra y en presencia del citado catalizador no se forma cantidad perceptible del acetónido, según el control efectuado mediante c.c.f.

Si se forma una pequeña cantidad utilizando sulfurico concentrado⁴⁴ como catalizador en vez del sulfato de cobre. Jacolina, acetona anhidra y ácido sulfúrico concentrado a temperatura ambiente durante siete horas producen una pequeña cantidad del acetónido pero la reacción parece alcanzar un equilibrio y no progresa aunque se aumente el tiempo de reacción.

P A R T E E X P E R I M E N T A L

TECNICAS GENERALES

Los puntos de fusión no están corregidos y se han de terminado en un aparato Kofler. Las rotaciones específicas se midieron en el Polarímetro 141 de la casa Perkin-Elmer en células de 1 dm. Los espectros de infrarrojo se registraron en un aparato Perkin-Elmer, modelo 257 y la fase se especifica en cada caso.

Los espectros de r.m.n. se han efectuado en un aparato de 60MHz (Modelo R-12 de Perkin-Elmer) en solución de deu terocloroformo.

Los análisis de combustión se han realizado en el Departamento de Análisis y Técnicas Instrumentales del Ins tituto de Química Orgánica y los espectros de masas se han obtenido en un espectrógrafo AEI MS9 en los laboratorios del CNRS en Gif-sur-Ivette (Francia).

EXTRACCION ALCALOIDES DEL SENEIO ERUCIFOLIUS

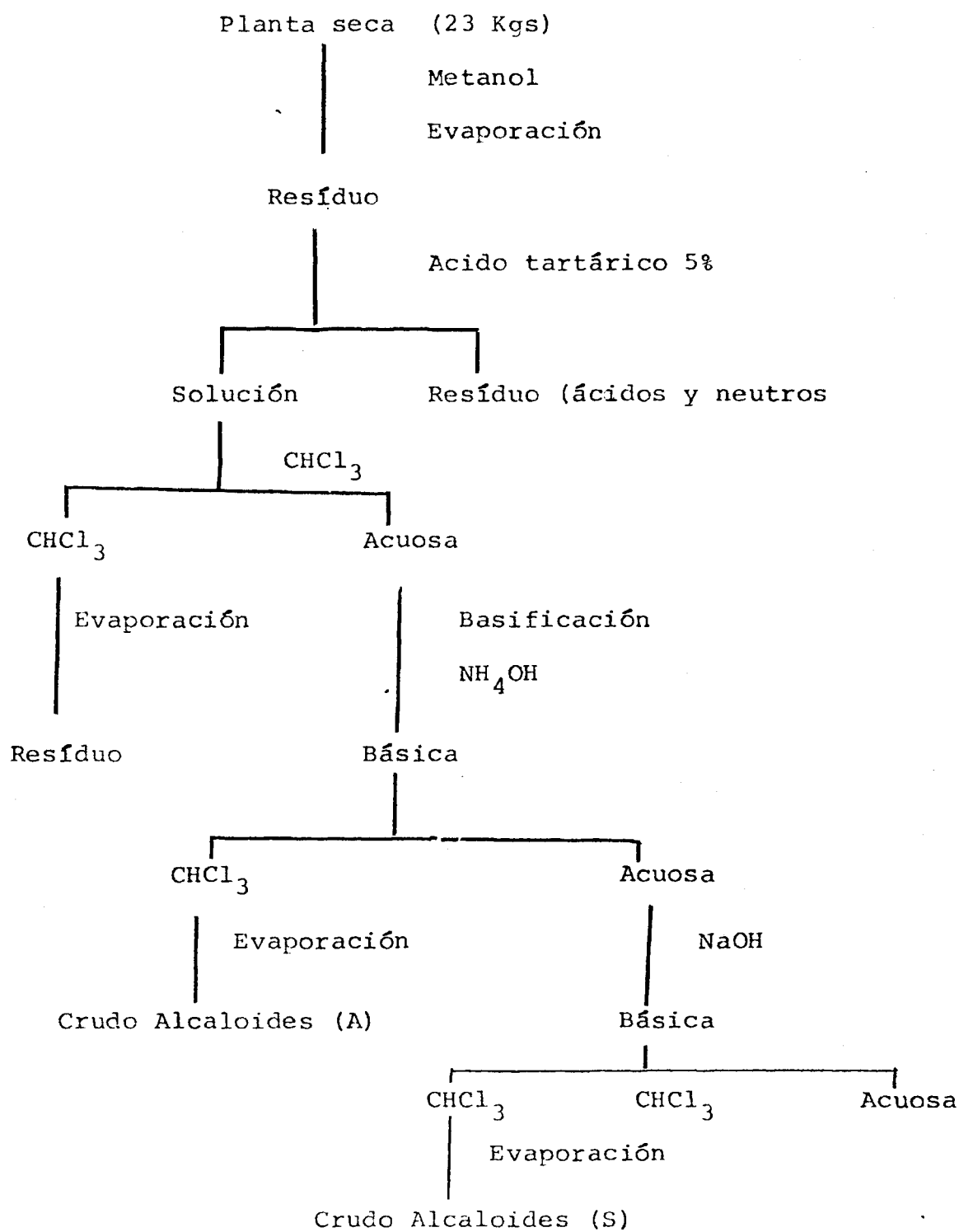
Por el procedimiento Soxhlet se extrajeron 23 Kgs. de planta seca y triturada con metanol (45 l.).

Se concentró la solución hasta unos 5 l.

El residuo se extrajo con ac. tartárico al 5% (1 l. de ac. por litro de disolución). Los extractos tartáricos se filtraron, añadiendo otra vez ac. tartárico al residuo que quedaba.

Las aguas ácidas se extrajeron con éter en primer lugar y luego con cloroformo, a continuación se basificaron con amoníaco concentrado y se extrajeron con CHCl_3 . Estos extractos clorofórmicos después de secados sobre SO_4Na_2 se evaporaron dejando un residuo de 121 gr. (crudo A).

Las aguas básicas, a las que se añadió sosa concentrada se extrajeron nuevamente con CHCl_3 . Evaporado éste dejó un residuo de 22 gr (crudo S) (Esquema 1). Se hizo C.C.F. sobre sílice y alúmina con el crudo. A. En las placas de alúmina se observaban 2 manchas, siendo el aluyente CHCl_3 , pero no así en las de sílice en las cuales solo aparecía una mancha.

ESQUEMA 1

PARTE I I I

SEPARACIONES CROMATOGRAFICAS DE LOS ALCALOIDES
MENOS POLARES

CROMATOGRAFIA DEL CRUDO "A" EN COLUMNA DE ALUMINA

Se preparó una columna de 1'25 m. de longitud y diámetro 5 cm., con 1 Kg. de alúmina desactivada a Grado III, es decir se le había añadido el 6% de H_2O . A la cabeza de la columna se añadieron los 121 gr. del crudo A disueltos en la menor cantidad posible de $CHCl_3$ e inmediatamente se empezó a eluir con $CHCl_3:CH_3OH$ 1%.

La marcha de la separación en columna se siguió por - C.C.F. sobre alúmina eluyendo con $CHCl_3$.

Las fracciones 5,6, 7 y 8 dan una única mancha en - C.C.F. y además cristalizan, no así la fracción 9 que nos quedó en forma aceitosa y en la C.C.F. se apreciaban dos manchas.

Los resultados de esta columna de alúmina se podrían resumir.

<u>Eluyente</u>	<u>Fracción</u>	<u>C.C.F.</u>	<u>Peso</u>
CHCl ₃ :CH ₃ OH 1%	F-1 a F-4	--	--
	F-5	1 mancha	1,14 gr.
	F-6	1 "	20,33 "
	F-7	1 "	16,51 "
	F-8	1 "	9,84 "
	F-9	2 "	1 "
	F-10 a 22	2 "	4 "
CHCl ₃ :CH ₃ OH 10%	F-23-a 26	2 "	4 "
	F-27 a 32	1 "	8 "

Se reunieron las fracciones 5 a 8.

Por otro lado, se reunieron F-9 a F-26 y como estaban muy impuras se volvieron a extraer con ac. tartárico 5% -

(400 c.c.). Las aguas ácidas se extrajeron con CHCl_3 , se basificaron con NH_3 30% y se volvieron a extraer -- con CHCl_3 . Los últimos extractos clorofórmicos después de secado sobre SO_4Na_2 , se evaporaron quedándonos 4 grs. de residuo (ETA II). En C.C.F. sobre alúmina siguen apareciendo dos manchas.

Por otra parte, se reunieron F-27 a F-32 y se volvieron a extraer como anteriormente con ac. tartárico 5%.

Se obtuvo un residuo de 4 grs. (ETA III) que por -- C.C.F. daba una única mancha y muy próxima al punto de aplicación.

CROMATOGRAFIA EN COLUMNA DE GEL DE SILICE DE F-5 a F-8

Se preparó una columna de 1,5 m. de longitud y 5 cm. de diámetro con 800 gr. de gel de sílice en CHCl_3 . El conjunto de las F-5 a F-8 era de 48 gr. que se añadieron a la cabeza de la columna disueltos en CHCl_3 . Se empezó a eluir directamente con $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 1%.

A partir de la fracción 8 comienzan a salir los alcaloides dando una única mancha por C.C.F. sobre alúmina pero estos residuos son coloreados. En la F-12 ya se obtiene una gran cantidad de un sólido blanco.

Los resultados de esta cromatografía los podemos resumir:

<u>Eluyente</u>	<u>Fracción</u>	<u>C.C.F.</u>	<u>P e s o</u>
$\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 1%	1 a 6	--	--
	7 a 9	1 mancha	--
$\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 5%	10	1 "	--
	11	" "	4 gr
	12	" "	8 gr sólido blanco
	13	" "	4 " " "
	14	" "	2 " " "
	15	" "	1,5 " " "
	16	" "	1 " " "
	17	" "	1 " " "
$\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{OH}$ 10%	18-19	" "	1 " " "
	20-23	" "	0,5 " " "

Se reunieron las fracciones 12 a 17 que se recristalizaron de acetona. Se obtuvieron 7,1471 gr. de SIG recristalizadas muy puro, las aguas madres se evaporaron quedándonos bastante residuo pero coloreado.

Por otro lado, se reunieron F-10 y F-11 ya que dando - las manchas de alcaloide estaban muy coloreados. Luego F-18 y 19 se reunieron y por otra parte F-20 a F-23. Se hizo en función de la pureza de los residuos.

Se determinó el punto de fusión de SIG, siendo P.F. \sim 196-202°C.

PICRATO SIG. Se disolvieron 30 mgr de SIG en etanol caliente y se añadieron unas gotas de una solución etanólica de ácido pícrico. Como no cristalizó al enfriar, se evaporó - el disolvente y el residuo se disolvió en caliente en la - menor cantidad posible de etanol. Cristalizó en forma de -- agujas. P.F. 201°- 203°C.

METAIODATO DE SIG. Se disolvieron 30 mgr. de SIG en metanol y se agregaron unas gotas de ICH_3 , se calentó a reflujo durante 2 horas. El residuo se recrystalizó de metanol. Al determinar su Punto de fusión nos encontramos con que empezaba a fundir a $180-185^\circ$ y terminaba a 225°C .

SEPARACION DE LA MEZCLA DE ALCALOIDES SIG UTILIZANDO CROMATOLOGRAFIA DE PARTICION¹ EN COLUMNA SOBRE CELITA-545

Se preparó una columna de 1,5 m. de longitud y 2,5 cm. de diámetro. Se mezclaron 130 gr. de celita-545 con la mitad de su peso (65 gr.), de una disolución 1 M de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$.

Este material se apelmazó en la columna.

A la columna se agregó Cl_4C que previamente había sido saturado con la disolución de fosfato, hasta que toda la columna de celita quedase mojada.

Se disolvieron 300 mgr. de SIG en la mínima cantidad de CHCl_3 . A esta disolución se le agregó una pequeña cantidad

de celita. La papilla formada se añadió a la cabeza de la columna apelmazándola después.

Los eluyentes de esta columna fueron Cl_4C , $\text{Cl}_4\text{C}:\text{CHCl}_3$ 3:1; $\text{Cl}_4\text{C}:\text{Cl}_3\text{CH}$ 1:1 y CHCl_3 ; saturados todos ellos, antes de agregarlos a la columna, con una disolución de NaH_2PO_4 1M.

La marcha de la separación se controló mediante cromatografía sobre papel Wathman n° 1, siendo el eluyente butanol:ac. acético 5%.

Los resultados de esta cromatografía se pueden expresar:

Eluyente	Fracción	R_F (papel)
Cl_4C	--	--
$\text{Cl}_4\text{C}-\text{CHCl}_3$ (3:1)	F - 1	--
	F - 2	0,56
	F - 3	0,55
	F - 4	0,55
	F - 5	0,53
	F - 6	0,52
	F - 7	0,52
	F - 8	0,51
$\text{Cl}_4\text{C} - \text{CHCl}_3$ (1:1)	F-9 a F-16	0,50
	F-17 a F-20	--
CHCl_3	F-24 a F-30	0,42

Se observó la separación de un alcaloide de $R_F = 0,42$ (E-3A).

Se recrystalizaron las fracciones por separado y se determinaron los poderes rotatorios.

$$(\alpha)_D^{F-2} = -53^\circ \text{ (C, 0,4233 gr en 100 cc CHCl}_3\text{)}$$

$$(\alpha)_D^{F-3} = -99,7^\circ \text{ (C, 0,2637 gr en 100 cc CHCl}_3\text{)}$$

$$(\alpha)_D^{F-5} = -131^\circ \text{ (C, 0,5219 gr en 100 cc CHCl}_3\text{)}$$

$$(\alpha)_D^{F-7} = -131^\circ \text{ (C, 0,534 gr en 100 CHCl}_3\text{)}$$

Por los datos de R_F y $(\alpha)_D$, se reunieron las fracciones como sigue:

F - 2	(E - 1A)	30 mgr
F - 3 y F - 4		30 mgr
F - 5 a F - 16	(E-2A)	120 mgr
F - 24 a F - 30	(E-3A)	200 mgr

P A R T E I V

CARACTERIZACION DE LOS ALCALOIDES

CONSTANTES FISICAS DEL ALCALOIDE E-1A: SENECONINA. Esta sustancia se recrystalizó en acetona. $PF=228^{\circ}-230^{\circ}C$ $(\alpha)_D^{25} = -53^{\circ}$. R_F papel = 0,55 se preparó el picrato de E-1A como anteriormente siendo P.F. = $197 - 200^{\circ}C$.

ESPECTRO IR DEL ALCALOIDE E-1A. Realizado en BrK

Las bandas más significativas aparecen a:

1.740 cm^{-1} , 1.710 , 1.160 , 1.190 , 1.220 , 1.240 , 1.650
y 1.660 , 960 y 800 cm^{-1} .

La discusión de estas bandas ha sido ya realizada en la parte teórica.

ESPECTRO R.M.N. DE E-1A. Se realizó en CDCl_3

A $\tau = 9.1$, doblete (3H), debido al agrupamiento $\text{CH}_3-\overset{\text{I}}{\underset{\text{I}}{\text{CH}}}$

A $\tau = 8.7$, singlete (3H), del agrupamiento $\text{CH}_3-\overset{\text{I}}{\underset{\text{I}}{\text{C}}}-\text{OH}$

A $\tau = 8.2$, doblete (3H), asignado a $\text{CH}_3-\overset{\text{I}}{\underset{\text{I}}{\text{CH}}}-\text{C}$

A $\tau = 6.0$ doblete (1H) y a $\tau = 4.5$, doblete 1H asignados
ambos al CH_2 que lleva la función hidroxílica
primaria.

A $\tau = 3.8$, banda ancha ($W_{1/2} = 6.6$ cps), 1H, del protón
etilénico del núcleo de pirrolizidina.

En $\tau = 4.1$ a $\tau = 4.5$, un cuartete del protón olefínico.

A $\tau = 5.0$ banda ancha del protón en C_7

ANALISIS DE E-1A. $\text{C}_{18} \text{H}_{25} \text{O}_5 \text{N}$. Hallado % C = 64,45, % H = 7,41,
% N = 4,16.

Teórico % C = 64,46, % H 7,51; % N = 4,17

ESPECTRO MASAS DE E-1A. M^+ 335 (17%) m/e : 93 (55%), -
94 (38%), 95 (36%), 119 (57,5 %), 120 (72,5%), 121 (31%),
136 (100%), 137 (25%), 138 (42,5%), 219 (32,5%), 220 (36%),
291 (6%).

CONSTANTES FISICAS DEL ALCALOIDE E-2A : SENECIFILINA

Esta sustancia se recrystalizó de acetato de etilo, ob
teniéndose agujas blancas cuyo punto de fusión 200-203°C -
(α)_DCHCl₃ = -131°, R_F = 0,50.

Se preparó el picrato de E-2A, como se describió ante-
riormente.

P.F. picrato = 191 - 193°C

ANALISIS DE E-2A. C₁₈H₂₃O₅N

Teórico : % C = 64,85 % H = 6,95 % N = 4,20

Hallado : % C = 64,06 % H = 6,80 % N = 3,98

ESPECTRO IR DE E-2A. Se realizó en Nujol.

Banda a 1.713 cm^{-1} asignada a $\begin{array}{c} \text{O} \\ | \\ \text{C}-\text{C}=\text{C}- \end{array}$
 " " 1.740 cm^{-1} debida a $\begin{array}{c} | \\ -\text{C}=\text{O} \end{array}$
 " " 1.200 cm^{-1} de $\begin{array}{c} | \\ -\text{O}-\text{C}=\text{O} \end{array}$
 " " 1.155 cm^{-1} de $\begin{array}{c} | \\ -\text{CH}_2-\text{O}-\text{C}- \\ | \end{array}$
 " " 1.665 cm^{-1} de $\begin{array}{c} | \\ \text{CH}_2=\text{C} \end{array}$
 " " 1.640 cm^{-1} atribuida $\begin{array}{c} | \quad | \quad | \\ -\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O} \end{array}$

El IR realizado en CHCl_3 :

Banda ancha a 3.520 cm^{-1} de hidroxilo

Banda ancha a 1.715 cm^{-1} de carbonilo

Banda ancha a 1.655 cm^{-1} de olefina

ESPECTRO R.M.N. de E-2A. Se realizó en CDCl_3 :

A $\tau = 8.4$, singlete, 3H, de $\begin{array}{c} | \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{OH} \\ | \end{array}$

A $\tau = 8.1$, doblete, 3H, de $\begin{array}{c} | \\ \text{CH}_3-\text{C}=\text{C} \\ | \\ \text{H} \end{array}$

A $\tau = 6$. doblete, 1 H y a $\tau = 4.55$ un doblete, 1H

Estos dos dobletes se atribuyen a los protones del -
carbono que lleva la función hidroxílica primaria.

A $\tau = 4.8$, un cuartete (2H) de $\text{CH}_2 = \overset{\text{I}}{\text{C}}$

A $\tau = 4.1$ un par de bandas (1H) que se asignan a la
olefina.

Por último, aparece una banda ancha ($W_{1/2} = 4,3$ c.p.s.)
a $\tau = 3,75$, que se atribuye al protón olefínico del núcleo
de pirrolizidina.

ESPECTRO DE MASAS DE E-2A. $M^+ = 333$, picos importantes m/e 69 (100%), 71 (91,5%), 81 (68%), 83 (83%), 85 (61%), 93 (68,5%), 94 (57%), 95 (94%), 97 (77%), 119 (70%), 170 (87%) --
136 (67%), 138 (44%), 246 (16%), 289 (10%).

CONSTANTES FISICAS DEL ALCALOIDE E-3A : ALLOJACOBINA

Esta sustancia se recristalizó de acetona obteniéndose 200 mg r. de ellos. Se determinó su punto de fusión : --
 197 - 200°C (α) $_D\text{CHCl}_3 = -28^\circ$, $R_F = 0,42$ en papel.

ESPECTRO IR DE E-3A. Se realizó en CCl_4 :

Banda a 3.560 cm^{-1} de hidroxilo.

Bandas a 1.735 cm^{-1} y 1.760 cm^{-1} , asignadas a grupos carbonilospero de esteres.

En la zona vibración de tensión de C-O encontramos -
 bandas a : 1.260 cm^{-1} , 1.180, 1.160, 1.145 y 1.120 cm^{-1} ,
 siendo de mayor intensidad las dos primeras y la última.

ESPECTRO R.M.N. de E-3A. Se realizó en CDCl_3 .

A $\tau = 8.85$, doblete, 3H, asignado a $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ \text{CH}_3-\text{C}- \\ | \end{array}$

A $\tau = 8.75$, doblete, 3H, de $\text{CH}_3 - \overset{\text{H}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}} - \text{C} - \text{J} = 6 \text{ c.p.s.}$

A $\tau = 8.65$, singlete, 3H, de $\text{CH}_3 - \overset{\text{OH}}{\underset{|}{\text{C}}} -$

A $\tau = 7.7$, señal ancha, debida a los protones C_6

/

A $\tau = 7.05$, cuartete, 1H, de $\text{H} - \overset{\text{O}}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}} - \text{C}$

A $\tau = 5.9$, doblete, 1H, $\text{J} = 12 \text{ c.p.s.}$ y a $\tau = 4.35$,
otro doblete, $\text{J} = 12 \text{ c.p.s.}$ 1 H, asignados a $\text{CH}_2 -$
 $\text{O} - \text{C} = \text{O}$

$\tau = 4.7$, una señal ancha del alcohol secundario

$\tau = 3.6$, banda ancha, 1 H, del protón olefínico del
núcleo de pirrolizidina.

ESPECTRO DE MASAS DE E-3A. M^+ 351 (21%). Los picos más importantes son: m/e 55 (80%), 57 (61%), 67 (67%), 69 (55%), 80 (91%), 81 (55%), 82 (44%), 93 (76%), 94 (76%), 95 (76%), 106 (94%), 108 (56%), 118 (74%), 119 (76%), 120 (76%), 121 (76%), 122 (74%), 136 (74%), 138 (100%), 306 (17%), - 307 (36%).

ANALISIS E-3A. $C_{18}H_{25}O_6N$.

Teórico : % C = 61,52 % H = 7,17 % N = 3,48

Hallado : % C = 61,25 % H = 6,90 % N = 3,8

HIDROLISIS DEL ALCALOIDE E-3A

Se tomaron 150 mgr (0,000427 moles) del alcaloide - E-3A y se disolvieron en 30 c.c. de metanol. A la disolución se añadieron 140 mgr (0,0040 moles) de KOH disuelta en la mínima cantidad posible de agua destilada. Se mantuvo a reflujo durante 1 hora.

Se evaporó el disolvente y se añadieron 2 c.c. de agua.

Las aguas básicas se extrajeron repetidamente con -- CHCl_3 .

Los extractos clorofórmicos se evaporaron dejando un residuo que eran las bases.

Las aguas básicas se acidificaron con SO_4H_2 30%, enfriando en un baño de hielo-agua. Las aguas ácidas se extrajeron con CHCl_3 . Una vez evaporado nos dejó un residuo cristalino de 50 mgr (R.C.).

La fracción acuosa se concentró y se extrajo con CHCl_3 : CH_3OH 5%. Evaporado el disolvente nos quedó un residuo -- aceitoso (RA) de 30 mgr.

Con estos residuos se hizo una cromatografía en papel Wathman n°1. Revelado con una solución saturada de verde de bromocresol , aparecen dos manchas cuyos R_F son:

$$R_F = 0,70 \quad \text{y} \quad R_F = 0,51$$

PREPARACION DE LOS ESTERES METÍLICOS

Los ácidos (RC y RA) se disolvieron en éter etílico y se fué añadiendo poco a poco a la disolución de diazometano, hasta que la disolución adquirió un color amarillo.

Se dejó a T ambiente durante 2 horas. Se evaporó el disolvente y el residuo se distribuyó entre una solución saturada de bicarbonato sódico y éter.

La fracción etérea evaporada nos dejó un residuo de los ésteres metílicos, 70 mgr.

SEPARACION DE LOS ESTERES METILICOS

Se hicieron ensayos en C.C.F. sobre sílice en distintos eluyentes, lográndose una buena separación con CHCl_3 : CH_3OH 0,5%.

Se hizo una cromatografía en placa preparativa con el crudo de esteres, al revelar con iodo se distinguen dos zonas. La zona de menor R_F nos dejó, después de eluida y evaporado el disolvente, un residuo aceitoso amarillento de 46 mgr (E-M-1). La zona de mayor R_F nos dejó residuo aceitoso de 22 mgr (E-M-2).

Por C.C.F. se observó que E-M-1 es producto único, pero que E-M-2 es mezcla de las dos sustancias.

Una nueva placa preparativa permitió obtener el producto E-M-2 puro, pero tan solo 12 mgr.

PODER ROTATORIO E-M-1

Se determinó en etanol.

$$(\alpha)_D = +23,6 \text{ (C, 1,635 gr)}$$

Poder rotatorio¹⁷ $(\alpha)_D$ del ester dimetílico del ácido jaconécico $(\alpha)_D = +28,2^\circ$ (etanol).

ESPECTRO IR de E-M-1

Se realizó entre cristales.

Banda ancha entre $3.700 - 3.200 \text{ cm}^{-1}$ de -OH asociado

Banda ancha a 1.750 cm^{-1} de $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C} \\ \backslash \\ \text{O} \end{array}$

Bandas a $1.300, 1.200, 1.150, 1.120$ y 1.070 cm^{-1} , de vibraciones de tensión C - O.

Coincide en líneas generales con el publicado¹⁷ para el jaconecato dimetilo.

ESPECTRO DE R.M.N. DE E-M-1

Tres señales: $\tau = 9.8, 9.0$ y 8.7 , 9H en conjunto, - asignadas a C_3 , C_5 y C_9 .

Dos singletes: $\tau = 6.4$ y $\tau = 6.3$, 3 H, cada uno de ellos, asignados a $CH_3 - O - C \begin{smallmatrix} // \\ O \end{smallmatrix}$.

Cuartete, $\tau = 6.0$ 1H, asignada a C_8 .

ESPECTRO IR de E-M-2

Se realizó entré cristales.

Banda muy ancha $3.700 - 3.100 \text{ cm}^{-1}$ de -OH

Centrada a 1.730 cm^{-1} hay una banda anchísima ($1.800 - 1.600 \text{ cm}^{-1}$) de grupo carbonilo.

Bandas 1.290 , 1.260 , 1.230 , 1.150 , 1.125 y 1.090 cm^{-1} , de tensión enlaces C-O.

ESPECTRO R.M.N. DE E-M-2

Doblete a $\tau = 9.15$, 3H, de $\text{CH}_3 - \text{CH}$ asignado a C_5

Doblete a $\tau = 8.85$, 3H, de $\text{CH}_3 - \text{CH}$ asignado a C_9

Singlete a $\tau = 8.7$, 3H, de $\text{CH}_3 - \text{C}$ asignado a C_3

Singletes a $\tau = 6.2$ (C_{11} o C_{12}) 3H, y a $\tau = 6.1$

($\text{C}_{12} \text{O}^1\text{C}_{11}$), asignados a los esteres metílicos.

PODER ROTATORIO E-M-2

Se realizó en etanol (n_D^{20} , 1.135)

$$(\alpha)_D = +30^\circ$$

Con el fin de purificar esta sustancia se destiló a - vacío. La sustancia E-M-2, se disolvió en CHCl_3 y se pasó a un microtubo, una vez evaporado el disolvente, el microtubo se introdujo en otro tubo con una ampolla en la parte

superior. Esta se rodeó con algodón mojado para que condensase el destilado. Destiló a vacío a 130°.

Se determinó nuevamente el poder rotativo de E-M-2 - en etanol siendo la concentración 0,345 gr/l.

$$(\alpha)_D = + 35^{\circ}\text{C}$$

REDUCCION DEL ALCALOIDE E-3A CON Cl_2Cr PREPARACION²⁰ DE LA SOLUCION DE CLORURO CROMOSO

Se amalgamaron 2,20 gr de polvo de Zn con una solución de 0,175 gr de cloruro mercurico y 0,1098 c.c. ClH concentrado en 2,2 c.c. de agua. Una vez que la amalgama estuvo formada se decantó la fase acuosa y se añadieron 4,4 c.c. de agua, 0,45 c.c. de ClH concentrado y 1,1 gr de cloruro crómico. Se mantuvo bajo atmósfera de CO_2 durante 4 horas. Luego se decantó la solución azul de cloruro cromoso.

REDUCCION¹⁸ DEL ALCALOIDE E-3A

La solución de cloruro cromoso se añadió a 50mgr - (0,142 mmoles) del alcaloide E-3A disueltos en 11,1 c.c. de acetona anhidra. Se añadieron 2 c.c. de ácido acético. Con agitación magnética y en atmósfera de CO_2 se mantuvo durante dos horas.

Se evaporó el disolvente al máximo, se basificó con -

una solución saturada de CO_3HNa y se extrajo con cloroformo. Evaporados los extractos clorofórmicos dejaron un residuo - de 42 mgr (R).

Por cromatografía sobre papel Whatman n° 1 se sabe que el R_F (R) = 0,47, mientras que R_F E-3A = 0,42.

PODER ROTATORIO DE R.

Se realizó en CHCl_3 .

$$(\alpha)_D = +12,2^\circ\text{C}$$

ESPECTRO R.M.N. DE R.

Fué realizado en CDCl_3

Doblete a $\tau = 8,7$, 6H, asignado a $\text{CH}_3-\underset{|}{\overset{|}{\text{CH}}}$ y $\text{CH}_3-\overset{\text{OH}}{\underset{|}{\text{C}}}-\text{C}$

Doblete $\tau = 8.5$, 3 H, de $\text{CH}_3 - \overset{\text{O}}{\underset{\text{C}}{\text{CH}}}$

A $\tau = 5.3$ aparece una señal anchísima debida a 4 H.

ANALISIS DE R

Un análisis cualitativo ha dado positiva la presencia de halógeno.

OXIDACION DE R

Se disolvieron 40 mgr (0,000114 moles) de R en acetona destilada sobre permanganato y se añadieron gota a gota 0,0356 c.c. (0,000228 moles) de reactivo Jones. Al cabo de una hora la disolución después de neutralizada con CO_3HNa se extrajo con CHCl_3 . Evaporado el disolvente nos dejó un residuo (-O-) de 27 mgr.

Por el espectro de R.M.N., la oxidación ha dado resultados negativos. Tampoco se acetila R.

Se hizo un nuevo intento de reducción, pero la preparación del cloruro cromoso fué distinta²³.

La reducción se realizó exactamente igual con 70 mgr del alcaloide E-3A, obteniéndose 50 mgr de un residuo - blanco cristalino (R-Cr) , que no correspondía al esperado producto de reducción.

REDUCCION DEL ALCALOIDE E-3A CON SeCNKPREPARACION DEL SeCNK

Se disolvieron 650 mgr (99m moles) de CNK y 840 mgr (0,0106 m moles) de Se en amoníaco líquido. Se mantuvo en friado con hielo-agua y con agitación magnética hasta que se evaporó todo el amoníaco líquido. El residuo se extra-jo con etanol, que evaporado nos dejó un residuo de SeCNK.

REDUCCION DEL ALCALOIDE E-3A

Se disolvieron 100 mgr (0,0008 moles) del alcaloide -E-3A en etanol acuoso 50% y se añadió el SeCNK. Se dejó -durante 5 días a temperatura ambiente y posteriormente a reflujo durante 24 horas.

Se filtró el precipitado rojo que había aparecido y -se evaporó el disolvente.

Con el residuo se hizo una cromatografía sobre papel

Wathman n° 1, eluyendo con butanol-acético 5% y se apreciaron 2 manchas $R_F = 0,54$ y $R_F = 0,41$.

SEPARACION DE ESTOS ALCALOIDES EN COLUMNA DE CELITA-545

Se preparó una columna de 50 cm de longitud y 2 cm de diámetro con 40 gr de celita -545 mojada con 20 c.c. de una disolución 1 M de $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$, que se fué apelmazando en la columna. Una vez que toda la columna estuvo mojada con Cl_4C , se añadió al residuo de alcaloides absorbidos en celita a la cabeza de la columna.

Los resultados de estas cromatografías en columna fué controlada por cromatografía en papel y puede resumirse:

Eluyente	Fracción	R_F
CCl_4	1 a 17	-- pptdo rojo
$\text{CHCl}_3:\text{CCl}_4$ (1:3)	18 a 29	0,52
$\text{CHCl}_3:\text{CCl}_4$ (1:1)	30 a 37	0,52
	38	--
	39 a 40	0,49
CHCl_3	41 a 44	0,41

Se reunieron las fracciones F-18 a F-37 denominándose al residuo SEC-II, y por otra parte se reunieron F-41a44 siendo E-3A.

SEC-II se recrystalizó de acetona, obteniéndose 6 mgr de alcaloide muy puros. Las aguas madres se concentraron y el residuo se extrajo con ac. tartárico 5%. Las aguas - ácidas se extrajeron con CHCl_3 . Después de basificar con NH_3 30% se volvieron a extraer con CHCl_3 .

El residuo obtenido se recrystalizó de acetona y se - comprobó la identidad de estos cristales con SEC-II por - C.C.F.

CONSTANTES FISICAS DE SEC-II

Punto de fusión 240 - 242 °C.

Poder rotatorio determinado en CHCl_3 y con 0,570 gr/litro
(α)_D = -53°.

ESPECTRO IR DE SEC-II

Se realizó un espectro con pastillas de BrK de Senecionina pura y de SEC-II. (Ver Fig. 9).

1,7 mgr de SEC-II y 165 mgr de BrK

1,8 mgr de Senecionina y 175 mgr de BrK

Se confirmó la identidad de ambas sustancias.

P A R T E V

SEPARACION DE LOS COMPONENTES MAS POLARES

SEPARACION DE LOS ALCALOIDES ETA-II EN COLUMNA DE ALUMINA

Se preparó una columna de 1 m. de longitud y 2 cm. de diámetro con 80 grs. de alúmina desactivada a grado III - (6% de H_2O). Se añadieron 4 grs, de ETA-II disueltos en $CHCl_3$. Los eluyentes de esta columna fueron $CHCl_3$; $CHCl_3$: CH_3OH 3%, $CHCl_3$: CH_3OH 10%.

La marcha de la separación se siguió por C.C.F. sobre alúmina eluyendo con $CHCl_3$: CH_3OH 3%.

La separación de esta columna de alúmina se puede resumir en:

Eluyente	Fracción	C.C.F.	R _F PAPEL
CHCl ₃	F- 1 a F- 3	1 mancha	0,54
	F- 4 a F-15	2 manchas	0,54 y 0,40
	F- 6 a F-15	1 mancha	0,40
CHCl ₃ :CH ₃ OH 3%	F-16 y F-17	2 manchas	0,40 y 0,25
	F-18 a F-23	1 mancha	0,25
CHCl ₃ :CH ₃ OH 10%	F-24 a F-26	---	---

El R_F de estas fracciones se determinó por cromatografía en papel Wathaman n° 1 butanol:ac. acético 5%.

El resultado de la cromatografía fué:

F-1 a F-3 - se recrystalizó de acetona 0,8127 gr. (ALE F-3)

F-6 a F-15 - se recrystalizó de acetona 200 mgr (ALE F-6)

F-18 a F-23 - recrystalizó de acetona con 200 mgr (ALE-F-18)

P A R T E V I

CARACTERIZACION DE ESTOS ALCALOIDES

CONSTANTES FISICAS ALE-II-F-6: OTosenina

P.F. = 232.234°C.

$R_F = 0,40$ por cromatografía sobre papel Wathman n° 1
(butanol: ac. acético).

$(\alpha)_D$ en $\text{CHCl}_3 = + 15^\circ$

ESPECTRO IR DE ALE-II F-6

Se realizó en CHCl_3

Banda a 3.550 cm^{-1} de $-\text{OH}$

Bandas a 1.750 y 1.725 cm^{-1} de $\overset{|}{-\text{C}} = \text{O}$

Bandas a $1.260, 1.175, 1.110 \text{ cm}^{-1}$ de $-\text{O}-\overset{|}{\underset{|}{\text{C}}}-$

ESPECTRO R.M.N. DE ALE-II - F-6

Se realizó en CDCl_3

A : $\tau = 8.9$, doblete $J=6,5$ c.p.s., 3H, asignada a $\text{CH}_3\text{-CH-C-}$

$\tau = 8.75$, doblete, 3H, atribuido a $\text{CH}_3\text{-CH-C-}$

$\tau = 3.65$, singlete, 3H, de $\text{CH}_3\text{-C-}$

$\tau = 7.9$, singlete, 3H, asignado a N-CH_3

$\tau = 7$, cuartete $J=5$ c.p.s., 1H, asignado a H-C-C

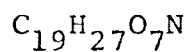
$\tau = 6.6$, señal ancha, mal resuelta, 2H, debida a C_3

$\tau = 5.65$ y $\tau = 4.5$, 2 dobletes ($J=11$ c.p.s.), integra cada uno de ellos por 1H asignados a $\text{CH}_2\text{-O-C=O}$

$\tau = 4.9$, señal ancha, parece ser un grupo de señales y es atribuida a C_7 .

$\tau = 3.35$, señal ancha, 1H, asignada a C_2 , protón olefínico de pirolizidina.

ANALISIS ALE-II F-6



Teórico: % C = 59,83 % H = 7,13 % N = 3,67

Hallado: % C = 59,52 % H = 7,06 % N = 3,35

ESPECTRO MASAS ALE-II F-6

$M^+ = 381$, siendo los picos más importantes:

m/e 53 (73%), 55 (66%), 57 (68%), 64 (83%), 66 (74%)
68 (95%), 70 (72%), 82 (50%), 83 (84%), 85 (55%), --
96 (55%), 110 (73%), 122 (64%), 151 (100%), 168 (68 %),
266 (25%), 337 (10%), 353 (10%).

IR de ALE-II F-6

Realizado en Nujol:

Banda muy ancha $3.600 - 3100 \text{ cm}^{-1}$ de -OH

Bandas a 1.750 y 1740 cm^{-1} de $-C = O$ de esteres.

Banda a 1.580 cm^{-1} asignada al carbonilo O-C-N

Bandas a 1.260 , 1.160 , 1.140 , 1.130 , 1.00 cm^{-1} , tensiones
de enlaces C-O, son de mayor intensidad 2°, 3° y 4°

Bandas a 980 y 960 cm^{-1} atribuídas a dobles enlaces.

CONSTANTES FISICAS DE ALE-II-F-18 : JACOLINA

$R_F = 0,25$ en cromatografía en papel Wathman n°1 , eluyendo con butanol : ácido acético 5%.

Punto de fusión: P.F = 213- 215°C.

El poder rotatorio se determinó en CHCl_3 : $(\alpha)_D = + 48^\circ$ (c,1.035) .

ESPECTRO DE MASAS DE ALE-II-F-18

$M^+ = 369$ apareciendo como picos más importantes los siguientes a m/e :

93 (86%) , 94 (50%) , 95 (53%) , 119 (96%) , 125 (100%) ,
121 (49%) , 136 (30%) , 138 (33%) , 206 () , 207 (11%) ,
236 (11%) , 326 .

ESPECTRO IR DE ALE-II F-18

Se realizó en CHCl_3 .

Bandas a 3690 y 3520 cm^{-1} , anchas de -OH

Banda a 1.720 cm^{-1} , ancha, asignada a C = O

Bandas a 1.270 y 1.180 cm^{-1} de -O-C^{=O}

1.150, 1.120 y 1.080 cm^{-1} con vibraciones tensión C-O-

1.000 y 950 cm^{-1} de flexión C = CH.

ESPECTRO IR ALE-II F-18 REALIZADO EN NUJOL

Bandas a: 3.535, 3.515 y 3.340 cm^{-1} , asignadas a -OH

1.740 y 1.720 cm^{-1} de carbonilos de esteres

1.190, 1.150, 1.110 y 1.100 cm^{-1} de tensión C-O

ESPECTRO R.M.N. DE ALE-II F-18

Doblete a τ 8.85 $(\text{CH}_3 - \overset{\text{I}}{\underset{\text{I}}{\text{CH}}} - \text{C},) (\text{C} - 18)$

Doblete a τ 8.76 ($J = 4 \text{ Hz}$) (asignable a $\text{CH}_3 - \overset{\text{OH}}{\underset{\text{I}}{\text{CH}}} - \text{C}) (\text{C}-17)$

Singlete a τ 8.72 asignable a $\text{CH}_3 - \overset{\text{I}}{\underset{\text{OH}}{\text{C}}} -$

Cuartete a τ 6.0 y 4.5 ($J = 11 \text{ Hz}$) (asignable a $-\text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{II}}{\text{C}}})$

Señal ancha a τ 4.9 $(-\overset{\text{I}}{\text{C}}-\text{O}-\overset{\text{I}}{\text{C}}-)$
 $\begin{array}{cc} \text{I} & \text{H} \\ \text{I} & \text{O} \\ \text{H} & \end{array}$

Señal ancha a τ 3.85 $(-\text{CH} = \overset{\text{I}}{\underset{\text{I}}{\text{C}}} -)$

ANALISIS ALE-II F-18

$\text{C}_{18} \text{H}_{27} \text{O}_7 \text{N}$

Teórico: % C = 58,52; % H = 7,36; % N = 3,79

Hallado: % C = 58,38; % H = 7,28; % N = 3,76

ACETILACION ALE-II - F-18

A 47 mgr (0,000105 moles) del alcaloide ALE-II-F-18 se añadieron 5 c.c. de anhídrido acético y se dejó a temperatura ambiente durante 48 horas.

A la solución concentrada se añadieron 5 c.c. de H_2O y posteriormente se basificó ésta, con una solución saturada de CO_3HNa . Se extrajo con cloroformo que después de evaporado nos deja un residuo aceitoso.

Este nos da dos manchas por C.C.F. sobre alúmina neutra siendo el eluyente $CHCl_3:CH_3OH$ 3%.

Se intentaron separar los productos en una columna -- corta de alúmina desactivada (Grado III) dando resultados negativos.

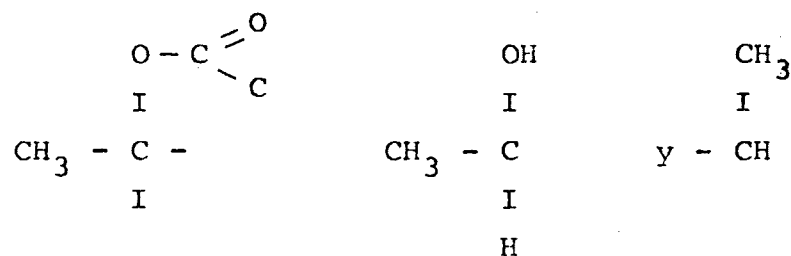
Se logró la separación por cromatografía en placa preparativa de sílice, revelándose con Iodo.

Separada y eluída la zona de mayor R_F dejó un residuo (Act-ALE-II(F-18)) de 14 mgr. que en C.C.F. daba una única mancha.

ESPECTRO R.M.N. ACT-ALE-II-F-18

Se realizó en CDCl_3 .

Encontramos: 3 señales entre $\tau = 8.85$ y 8.7 , 9H, atribuídas a :



singlete a $\tau = 8.0$ 3H, asignado a $\text{CH}_3\text{-CO-}$

Las señales restantes son idénticas a las del espectro de ALE-II F-18.

ACETILACION PLATIFILINA EN MEDIO ACIDO

Los intentos de acetilar Platifilina con anhídrido - acético, y piridina resultaron negativos.

A 45 mgr (0,000133 moles) de Platifilina se añadieron 5 c.c. de anhídrido acético y unas gotas de CF_3COOH . Se dejó a T ambiente durante 24 horas.

La solución después de basificada con CO_3HNa , se extra_{jo} con CHCl_3 , Evaporados los extractos dejaron un residuo de 40 mgr (Act-Pt-F).

Por C.C.F. el residuo nos dió una mancha de mayor R_F que la Platifilina. Se hizo una cromatografía sobre papel Wathman n° 1, butanol-acético 5%, siendo: $R_F^{\text{Act-Pt-F}}=0,63$ y $R_F^{\text{Platifilina}} = 0,57$.

ESPECTRO R.M.N. DE ACT-Pt-F

Realizado en CDCl_3 :

Doblete, 3 H, a $\tau = 9.0$ de $\text{CH}_3 - \overset{\text{I}}{\underset{\text{I}}{\text{CH}}}$

Sinolete, 3H, $\tau = 8.7$ de $\text{CH}_3 - \underset{\text{I}}{\text{C}} - \overset{\text{O}}{\text{C}} = \overset{\text{O}}{\text{C}}$

Singlete, 3H, $\tau = 8.3$ de $\text{CH}_3 - \text{C} = \text{C}$

Singlete, 3H, $\tau = 7.9$ de $\text{CH}_3 - \overset{\text{O}}{\text{C}} - \text{O} -$

El resto de las señales coincide con las de Platifilina.

ACETILACION DE SIG EN MEDIO ACIDO

Se parti6 de 212 mgr de SIG, mezcla de los alcaloides Senecionina, Senecifilina y E-3A.

La acetilación se realizó de la misma forma que para Platifilina. Se obtuvo un residuo de 268 mgr (Act-SIG-F).

Este residuo por C.C.F. sobre sílice, eluyendo con - CHCl_3 : CH_3OH 5% y estando la cubeta saturada en NH_4OH , se aprecian 2 manchas.

SEPARACION DE LOS ACT-SIG-F

Con los 268 mgr de ACT-SIG-F se hicieron 2 placas preparativas de alúmina básica, siendo el eluyente CHCl_3 :ben_ceno 10%. Al revelar con iodo se vieron dos zonas.

Separadas y eluidas las dos zonas se obtuvieron 64 mgr de 2pp y 70 mgr 3 pp.

Por C.C.F. sobre alúmina básica 2 pp es producto único pero no así 3 pp que es mezcla de los productos.

Se consiguieron separar por una nueva cromatografía en placa preparativa, eluyendo con CHCl_3 . Se obtuvieron 30 mgr. de 3 pp.

ESPECTRO R.M.N. 2 PP

$\tau = 9.0$ doblete, 3H, asignado a $\text{CH}_3 - \overset{\text{H}}{\underset{\text{I}}{\text{C}}} -$

$\tau = 8.8$ doblete, 3H, de $\text{CH}_3 - \overset{\text{H}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}} - \text{C}$

$\tau = 8.7$, singlete, 3H de $\text{CH}_3 - \overset{\text{O}}{\underset{\text{I}}{\text{C}}} - \text{C}$

$\tau = 8.0$ singlete, 3H de $\text{CH}_3 - \overset{\text{O}}{\text{C}} = \text{O} -$

$\tau = 7.0$ señales mal resueltas, que parecen formar un

cuartete, asignado a $\text{H} - \overset{\text{O}}{\underset{\text{I}}{\text{C}}} - \text{C} - \text{CH}_3$

ESPECTRO R.M.N. 3PP

Singlete, 3H, a $\tau = 8.7$ de $\text{CH}_3 - \overset{\text{I}}{\underset{\text{I}}{\text{C}}} - \text{O} - \overset{\text{O}}{\text{C}} = \text{CH}$

Doblete, 3H, a $\tau = 8.2$ de $\text{CH}_3 - \text{CH} = \begin{array}{c} \text{I} \\ \text{C} \\ \text{I} \end{array}$

Singlete, 3H, a $\tau = 8.0$ asignado $\text{CH}_3 - \text{C} \begin{array}{l} \nearrow \text{O} \\ \searrow \text{O} \end{array}$

El resto de las señales coinciden con las de Senecifilina.

HIDROGENACION CON TRIS (TRIFENILFOSFINA) CLORO RODIO DE
SENECEFILINA

El catalizador Tris (trifenilfosfina) cloro Rodio se obtuvo disolviendo 4 mgr de Cl_3Rh en etanol. A la solución etanólica se le añadieron 20 mgr de $\text{P}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$ en benceno. Se pasó corriente de N_2 para desoxigenar los disolventes.

La hidrogenación se realizó a 60° y a 6 atmósferas.

60 mgr (0,00018 moles) de Senecifilina se disolvieron en etanol y se añadieron a la solución de tris (trifenilfosfina) cloro ródio. Se mantuvo en esas condiciones durante 8 horas.

Evaporado el disolvente, se hizo cromatografía sobre papel y aparecen 2 manchas $R_F = 0,85$ y $R_F = 0,50$.

Se separaron en una columna de alúmina desactivada a Grado III. Se logran separar 25 mgr de H-Tris.

En el espectro R.M.N. de H-Tris se obtiene únicamente una señal a $\tau = 2.4$ y un doblete a $\tau = 8.7$.

HIDROGENACION CON Bis (PIRIDINA) DIMETILFORMAMIDA DICLORO
RODIO BOROHIDRURO DE SENECEFILINA

Se intentó la hidrogenación con un nuevo catalizador Bis (piridina) dimetilformamida dicloro Rodio borohidruro.

El catalizador se preparó:

1°. Se disolvieron 8 mgr $\text{Cl}_3 \text{ Rh}$ y 10 c.c. de piridina en etanol.

Se mantuvo a reflujo durante una hora. Evaporando el disolvente quedaron unos cristales amarillos de $(\text{Py})_3\text{RCl}_3$.

Estos cristales se disolvieron en 10 c.c. de dimetil -- formamida.

A la solución se añadió 2 mgr BH_4Na finamente dividido bajo atmósfera de H_2 .

Por una boca auxiliar del aparato de hidrogenación, se introdujeron 55 mgr (0,000165 moles) de Senecifilina disuelta en dimetilformamida y se mantuvo en atmósfera de H_2 y -- con agitación durante 24 horas.

Transcurrido este tiempo, se diluyó con H_2O y se extrajo con $CHCl_3$. Evaporados los extractos clorofórmicos - nos dejaron un residuo H - Py - Sf.

ESPECTRO R.M.N. H-Py-Sf

A $\tau = 9.1$, doblete, mal resuelto, 3H, CH_3-CH

A $\tau = 8.75$, singlete, 3H, $CH_3 - CH_3 - C$

A $\tau = 8.1$ doblete, 3H $CH_3 - C = C$

REDUCCION DE SENECIFILINA CON DIIMIDA

Preparación de la diimida.

En un matraz de tres bocas se pusieron 222 mgr (1,95 m moles) de azidocarbonamida y 20 c.c. de H_2O . Se añadieron 219 mgr (3,9 m. moles), de KOH. Se mantuvo a reflujo y bajo corriente de N_2 durante 3 horas, apareciendo entonces un precipitado blanco.

Se añadieron 0,315 c.c. de ácido acético (3 equivalentes respecto al ácido carboxílico).

El alcaloide Senecifilina (65 mgr), se añadió en agua acidulada con acético a la solución de diimida y se mantuvo bajo atmósfera de N_2 durante 12 horas.

La solución se concentró y se basificó con una solución saturada de bicarbonato sódico.

Las aguas básicas se extrajeron con cloroformo que una vez evaporados dejaron un sólido blanco (41 mgr) de II.

El R_F de esta sustancia por cromatografía en papel es $R_F^{II} = 0,53$.

El espectro R.M.N. de II es idéntico al de Senecifilina.

Se realizó otra vez esta reducción pero manteniéndolo a reflujo, siendo también negativa.

REDUCCION DE LA SENECIFILINA CON HIDRAZINA

Se disolvieron 50 mgr (0,15 m moles) de Senecifilina en $\text{CH}_3\text{OH}-\text{CHCl}_3$.

A la disolución se añadieron 0,03 c.c. de hidrazina - del 98%, 0,02 c.c. de una solución al 1% de SO_4Cu y 0,11 c.c. de H_2O_2 del 30%. El H_2O_2 , se fué añadiendo gota a -- gota a la solución enfriada a 0°C .

Se extrajo el producto con CHCl_3 y se comprobó por cromatografía sobre papel Wathman n° 1 que no ha habido reducción.

REDUCCION DE SENECIFILINA CON DIBORANO

En un matraz de 3 bocas se pusieron 0,2 c.c. de BF_3 - eterato en 5 c.c. de dietilenglicol dimetil eter (diglyme), bajo atmósfera de N_2 se fueron añadiendo gota a gota 41 mgr de BH_4Na , disueltos en diglyme. La corriente de gas se hizo pasar a través de un matraz que contenía 65 mgr (0,3 m moles) de Senecifilina disueltos en THF.

Se mantuvo en estas condiciones durante 4 horas, se evaporó el THF. Al residuo se añadió ac. acético y se mantuvo a reflujo en baño de aceite durante 3 horas.

Se basificó la solución con CO_3HNa y se extrajo con CHCl_3 .

Se comprobó por cromatografía sobre papel Whatman que no hubo reducción.

REDUCCION DE ALE-II (6)

El par Zn-Cu se preparó: A 18 c.c. de una solución de SO_4Cu 15% W/V, se fueron añadiendo poco a poco 2,5 gr de polvo de Zn. En esta reacción se desprendió gran cantidad de calor. Una vez añadido todo el Zn se mantuvo con agitación magnética 30 minutos. La solución se filtró, quedando en el filtro el par Zn-Cu.

Se disolvieron 50 mgr (0,14 m moles) de ALE-II-F-6 en 25 c.c. de etanol y se añadió el par Zn-Cu.

Se calentó en baño de aceite para que la ebullición -
fuese violenta durante 60 horas.

Filtrada la disolución y evaporado el disolvente nos
dejó un residuo de 45 mgr. Por C.C.F. se observó que el -
producto no había sufrido ninguna transformación.

EPOXIDACION DE PLATIFILINA

Se hicieron varios intentos para epoxidar la Platifili
na.

En primer lugar con ac. peracético; se obtuvo una solu-
ción que contenía este ácido en 2-2,5 %, con ac. acético y
 H_2O_2 . Posteriormente se hizo otro ensayo con 3-cloroperben-
zoico.

EPOXIDACION PLATIFILINA CON AC. PERTIFLUORACETICOPREPARACION DEL AC. PERTRIFLUORACETICO

A una solución de 0,3172 ml. de anhídrido trifluoracético en 2 c.c. de cloruro de metileno, se añadieron 0,065 ml. de H_2O_2 del 90%. La reacción se realizó enfriando en un baño hielo-agua.

EPOXIDACION

Se disolvieron 90 mgr (0,0003 moles) de Platifilina - en 5 c.c. de cloruro de metileno, se añadió 0,854 gr. de Na_2HPO_4 . Esta suspensión se mantuvo con agitación magnética y se fué añadiendo gota a gota la solución de ácido -- pertrifluoracético (8 moles por mol de olefina).

Se puso a reflujo durante 30 minutos.

Posteriormente se añadieron 5 c.c. de H_2O . La fase orgánica se separó y la acuosa se extrajo con cloruro de me

tileno. Los extractos orgánicos se lavaron con una disolución de HCO_3Na al 10% y se extrajeron con cloruro de metiileno, y nos dejaron un residuo de 72 mgr (FA-1).

A la fase acuosa se le añadió el SO_4H_2 concentrado necesario para que quedara un SO_4H_2 al 5% y polvo de Zn, se mantuvo 24 horas con agitación magnética.

Basificada la disolución se extrajo nuevamente con -- CH_2Cl_2 , quedando un residuo de 20 mgr (FA₂).

Se hizo una C.C.F. sobre sílice y alúmina con ambos residuos y se observaron 2 manchas en ambos residuos.

Se separaron ambos productos por cromatografía en placa preparativa de sílice.

R.M.N. de F A

Doblete, 3H, $\tau = 9.0$ de $\text{CH}_3 - \text{CH} - \text{C}$

Doblete, 3H, $\tau = 8.15$ de $\text{CH}_3 - \overset{\text{H}}{\underset{|}{\text{C}}} = \text{C}$

Doblete, 5H, $\tau = 8.7$ asignado a $\text{CH}_3 - \text{C} \begin{array}{c} \text{OH} \\ / \end{array}$ y $\text{CH}_3 - \text{C} \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \\ \backslash \quad / \quad \backslash \end{array} - \text{C}$

Cuartete, 1H, $\tau = 4.15$ - CH = CH

Se hizo un nuevo intento con el ácido pertifluoracético manteniéndolo 8 horas a reflujo, pero no se aumentó el rendimiento de la epoxidación.

ACETONIDO DE ALE-II-F-18

Se realizó en primer lugar en acetona secada sobre CO_3K_2 anhidro y SO_4Cu anhidro y a reflujo durante 30 horas. Por C.C.F. del residuo se observó que la reacción no ha tenido lugar.

Se repitió la experiencia utilizando otras condiciones. Para ello se disolvieron 50 mgr (0,081 m moles) del alcaloide en 5,05 c.c. de acetona desecada sobre CO_3K_2 y 0,05 c.c. de SO_4H_2 concentrado y se dejó a temperatura ambiente 24 horas.

Se basificó la solución con CO_3HNa y se extrajo con CHCl_3 . Se hizo C.C.F. con el residuo y nos dió dos manchas.

Se separaron los productos con una corta columna de sílice y se aislaron 6 mgr de la fracción correspondiente al acetónido.

CONCLUSIONES

- 1^a. Haciendo uso de una combinación apropiada de técnicas cromatográficas hemos conseguido resolver el complejo crudo de alcaloides que se obtiene de plantas del *Senecio erucifolius* en cinco componentes puros.
- 2^a. El estudio pormenorizado de los datos espectroscópicos obtenidos con cada una de estas sustancias puras nos ha permitido identificar tres de ellas con los alcaloides del tipo pirrolizidina denominados Senecionina, Senecifilina y Jacolina.
- 3^a. Los dos alcaloides restantes no parecen haber sido descritos previamente en la literatura química.
- 4^a. Basándonos en los datos espectroscópicos del producto natural y, sobre todo, en los resultados de su degradación química hemos asignado la estructura 51 (ver pág. 99) a uno de estos nuevos alcaloides.

- 5^a. Un estudio comparativo de los datos existentes en la bibliografía nos permite concluir que existen indicios razonables de que, en trabajos anteriores se han confundido los alcaloides Jacobina y Allojacobina.
- 6^a. Los datos espectroscópicos obtenidos con el segundo nuevo alcaloide, junto a consideraciones biogénéticas, nos han llevado a asignarle la estructura 65 (ver pág. 120).
- 7^a. La estructura 65 entraña una modificación de la estructura aceptada para el alcaloide Otosenina que consideramos idéntico al producto aislado por nosotros. Un análisis de los datos existentes en la bibliografía nos hace pensar que la anterior estructura (52, pág.107) se ha asignado sin llevar a cabo una demostración rigurosa. Parece además probable que al menos dos sustancias distintas han sido consideradas idénticas (Otoseninas de Mensikov², Minata²³ y Otoseninas de Santavy⁴ y Adams²⁴).

- 8^a. Dada la importancia que para la elucidación estructural de estos alcaloides supondría el disponer de métodos apropiados que permitieran relacionarlos entre sí, hemos ensayado varias vías de conseguir este objetivo.

B I B L I O G R A F I AIntroducción.

1. G.P. MENSHIKOV. Ber. Dent. Chem. Ges 65, 974 (1932).
2. R. ADAMS y E.F. ROGERS. J. Am. Chem. Soc. 61, 2815 (1939).
3. A.J. AASEN, C.C.J. CULVENOR y L.W. SMITH. J. Org. - Chem. 34, 4137 (1969).
4. C.K. ATAL, K.K. KAPUR, C.C.J. CULVENOR y L.W. SMITH. Tetrahedron Letters 537 (1966).
5. C.C.J. CULVENOR. L.W. SMITH y R.I. WILLING. Chem. - Commun. 65, (1970).
6. R.H.F. MANSKE. The alkaloids Chemistry and Physiology. Academic Press. New York. 1969.
7. A. KLASEK; P. SEDMERA. Collect. Czech. Chem. Commun. 36 (6), 2205 (1971).

8. L.B. BULL; C.C.J. CULVENOR y A.T. DICK. The pyrrolizidine alkaloids. North-Holland Publishing Company. Amsterdam. 1968.
9. W. YAGO; C. BINGLEY; J. PATHOL. Bacteriol. 98, 115 (1969).
10. W.R. LAWS. Aust. Vet. J. 44, 453 (1968).
11. A.R. MATTOCKS. Nature, 217 (5130) 723 (1968).
12. A.R. MATTOCKS. J. Chem. Soc. C., 5, 329 (1967).
13. A.R. MATTOCKS. J. Chem. Soc. C 9, 2698 (1969).
14. C.C.J. CULVENOR. L. W. SMITH. Aust. J. Chem. 20, (II) 2499 (1967).
15. A.R. MATTOCKS. Anal. Chem. 39, 443 (1967).
16. MC LEAN. Pharmacol. Rev. 22, (4) 429 (1970).
17. R. SCHOENTAL. Nature, 227, 40 (1970).

18. C.C.J. CULVENOR; J. A .EDGAR; L.W. SMITH. Nature -
(London). New. Biol. 229, 8, 255 (1971).
19. A.R. MATTOCKS. J. Chem. Soc. C, 8, 1155 (1969).
20. A.R. MATTOCKS and I.N.H. WHITE. Nature (London) New
Biol. 231 (21) 114 (1971).
21. C.G. GORDON - GRAY. J. Chem. Soc. C 8, 781, (1967).
22. A. KLASEK; VRUBLOSKY; F. SANTAVY. Collect. Czech. -
Chem. Commun. 32, 2512 (1967).
23. C.C.J. CULVENOR; G.M. O'DONOVAN, L.W. SMITH. Aust. J.
Chem. 20, 801 (1967).
24. C.C.J. CULVENOR; J.A. EDGAR; L.W. SMITH. Aust. J. -
Chem. 23 (9) 1853 (1970).
25. C.C.J. CULVENOR; G. M. O'Donovan; R.S. SAWHNAY. Aust. J.
Chem. 23 (2) 347 (1970).

26. D.H.G. CROUT; W. DAVIES; L.W. SMITH; WHITEHOUSE.

J. Chem. Soc. Perkin Transactions I (5) 671 (1972).

27, D.H.G. CROUT; J. Chem. Soc. C. 1233. (1967).

27. D.H.G. CROUT; W. DAVIES. J. Chem. Soc. D. 11. 635 -
(1970).

B I B L I O G R A F I APARTE TEORICA

1. R. ADAMS y M. GIANTURCO. J.An. Chem. Soc. 78, 398 - (1956).
2. L.B. BULL, C.C.J. CULVENOR y A.T. DICK. The pyrrolizidine alkaloids. North-Holland Publishing Company. Amsterdam. 1968.
3. H.G. BOIT. Ergebnisse der Alkaloid Chemie bis. 1960. Akademik-Verlag. Berlin. 1961.
4. H.B. SCHRÖTER y F. SANTAVY. Collect. Czechoslov. - Chem. Comm. 25, 472 (1960).
5. H.M. FALES, H.A. LLOYD y I. MILNE. J. Am. Chem. Soc. 91, 3682 (1969).
6. H.M. FALES, H.A. LLOYD y I. MILNE. J. Am. Chem. Soc. 92, 590 (1970).

7. N. NEUNER-JEHLE y H. NESVADOKA. Monastch. Chem. 96, 321 (1965).
8. C.C.J. CULVENOR y W.G. WOODS. Aust. J. Chem. 18, - 1625 (1965)
9. A.J. AASEN, C.C.J. CULVENOR y L.W. SMITH, J. Org. - Chem. 34, 4137 (1969).
10. C.C.J. CULVENOR y R. DAL. BON, Aust. J. Chem. 17, - 1296 (1964).
11. VARIAN. High Resolution NMR Spectra Catalog. Espectros núms. 32 y 173.
12. R.B. BRADBURY y C.C.J. CULVENOR, Aust. J. Chem. 7, 378 (1954).
13. R.B. BRADBURY y S. MOSBAUER. Chem. and Ind. 1236 - (1956).
14. J. FRIDRICHSONS, A. MC L. MATHIESON y D.J. SUTOR. - Tetrahedron Letters 35. (1960).

15. S. MASAMUNE. J. Am. Chem. Soc. 82, 5253 (1960).
16. R.B. BRADBURY y S. MASAMUNE. J. Am. Chem. Soc. 81, 5201 (1959).
17. R.B. BRADBURY y C.C. J. CULVENOR. Chem. and Ind. 1021 (1954).
18. R.B. BRADBURY y J.B. WILLIS. Aust. J. Chem. 9, 258 (1956).
19. G. BARGER y J.J. BLACKIE. J. Chem. Soc. 584 (1937).
20. L. FIESER y M. FIESER. Reagents for Organic Synthesis. John. Wiley and Sons. New York. Vol I, p. 149.
21. S. CORSANO. Gazz. Chim. Italiana 99, 915 (1969).
22. R.H.F. Manske. Can. J. Research 5, 651 (1932).
23. KEN'ICHI TAKEDA, I. HORIBE, M. TERAOKA y H. MINATA. J. Chem. Soc. (C), 973 (1970).

24. C.C.J. CULVENOR. Aust. J. Chem. 17, 233 (1964).
25. F.W. BERGROM. J. Am. Chem. Soc. 48, 2319 (1926).
26. J.A. WUNDERLICH. Chem. and Ind. 2089 (1962).
27. N.J. Leonard. Recor Chem. Progress 17, 243 (1946).
28. E.S. ZDANOVIC y G.P. MENSKIKOV. J. Gen. Chem. 11,
835 (1941).
29. R. ADAMS, M. GIANTURCO y M.L. VAN DUUREN. J. Am. -
Chem. Soc. 78, 3513 (1956).
30. M.P. CAVA, K.V. RAO, J.A. WEISBACK, R.F. RAFFAUF y
B. DOUGLAS. J. Org. Chem. 33, 3570 (1968).
31. S. VALVERDE y F. Martín Panizo. An. Quim. 67, 425 -
(1971).
32. L. MARION. Tetrahedron Letters 26, 2189 (1969).

41. E.E. J. VAN TAMELEN; R.S. DEWEY y R.J. TIMMONS. Tetrahedron Letters 4245 (1970).
42. M. OHNO y M. OKAMOTO, Organic Synteses. John Wiley and Sons New York. Vol. 49, p. 30.
43. W.G. Brown y MANAY. J. Am. Chem. Soc. 81, 4108 -- (1959).
44. L.F. FIESER y M. FIESER. Reagents for Organic Synthesis. John Wiley and Sons. New York. Vol. I, p. 200.
45. S. MORRIS KUPCHAN y M. MARUYAMA. J. Org. Chem. 36, - 1187 (1971).
46. J. ELKS, G.H. PHILLIPS, T. WALKER y L.J. WYMAN.- J. Chem. Soc. 4330 (1956).
47. L.F. FIESER y M. FIESER. Reagents for Organic Synthesis. John Wiley and Sons. New York. Vol. I, p.459.
48. W.D. EMMONS, A.S. PAGANO. J. Am. Chem. Soc. 77, 89 - (1955).

33. M. FETIZON y J.C. GRAMAIN. Bull. Soc. Chim. Fr. 651 (1969).
34. C. DJERASSIE y J.S. GUTZWILLER. J. Am. Chem. Soc. - 88, 4537 (1966).
35. R. HARMON y D.J. PARSONS. J. Org. Chem. 34, 3684 - (1969).
36. F.J. Mc Quilin. J. Chem. Soc. (C) 5, 840 (1971).
37. E.E.J. VAN TAMELEN., R.S. DEWEY; M.F. LEASE; W. H. PIRKLE. J. Am. Chem. Soc. 83, 4302 (1961).
38. L. F. FIESER y M. FIESER. Reagents for Organis - Synthesis. John Wiley and Sons. New York. Vol. I, pag. 257.
39. E.J. COREY y D.J. PASTO. J. Am. Chem. Soc. 83, 2957 (1961).
40. E.E. J. VAN TAMELEN; R.S. DEWEY y R.J. TIMMONS. J. Am. Chem. Soc. 83, 3725 (1961).

50. W.D. EMMONS. J. Am. Chem. Soc. 76, 3468 (1954).

51. J. RONDEST y J. POLONSKY. Bull. Soc. Chim. Fr. 1253
(1964).

I N D I C E

INTRODUCCION

PARTE TEORICA:

PARTE I

Componentes básicos menos polares del <i>S. erucifolius</i>	35
Alcaloide E-1A: Senecionina.....	41
Alcaloide E-2A: Senecifilina.....	57
Alcaloide E-3A: Allojacobina.....	70

PARTE II

Componentes básicos más polares del <i>S. erucifolius</i>	103
Alcaloide ALE-II-F-6: Otosenina.....	105
Alcaloide ALE-II-F-18: Jacolina.....	122

PARTE III

Transformaciones de estos alcaloides.....	129
Acetilacion.....	130
Hidrogenación.....	136
Reducción epóxido-olefina.....	143
Epoxidación.....	144
Acetónidos.....	146

PARTE EXPERIMENTAL

I.- Tecnicas generales.....	148
II.- Extracción del Senecio erucifolius.....	149
III.- Separaciones cromatográficas del crudo.....	151
IV.- Caracterización de los alcaloides	
Senecionina.....	159
Senecifilina.....	162
Allojacobina.....	165
V.- Separación cromatográfica de los componentes más poares del Senecio erucifolius.....	183
VI.- Caracterización de estos alcaloides	
Otosenina.....	185
Jacolina.....	189
VII.- Reacciones de transformación	
Acetilación.....	192
Hidrogenacion.....	199
Reducción.....	201
Epoxidación y otras transformaciones.....	206

CONCLUSIONES

210

BIBLIOGRAFIA

213

INDICE